

Inmunología

Publicación oficial de la Sociedad Española de Inmunología



Entendiendo los mecanismos inmunitarios frente al nuevo coronavirus SARS-CoV-2

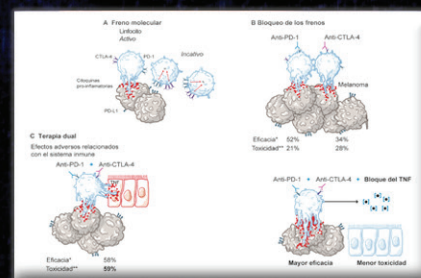
II Seminario sobre: Avances en
Inmunología e Inmunoterapia

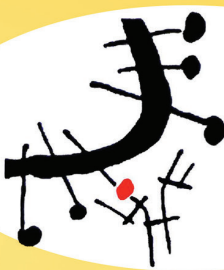


17th European Meeting on
Complement in Human
Disease (EMCHD)



Prophylactic TNF blockade
uncouples efficacy and toxicity
in dual CTLA-4 and PD-1
immunotherapy





SEI

**Sociedad
Española de
Inmunología**

¿Por qué hacerse SOCIO de la SEI?



Estudiante Predoctoral

La SEI apoya a los **JÓVENES** inmunólogos con **BECAS** para **CONGRESOS** nacionales e internacionales que nos permiten conocer los últimos avances en el campo.

Para los que escogen la **Especialidad de Inmunología**, la SEI es la única asociación que defiende nuestros intereses y lucha para que se cree el **ÁREA DE CAPACITACIÓN ESPECÍFICA** y que nuestra especialidad tenga **FUTURO**.



**Residente de
Inmunología**

Entra en www.inmunologia.org en la sección **HACERSE SOCIO**.

Si eres profesional de la Inmunología, introduce tus datos y el nombre e e-mail de un socio en activo de la SEI que te avale. Nosotros contactaremos con el socio de referencia. Si no conoces socios en activo, introduce como socio "SEI" y el e-mail "gestionSEI@inmunologia.org" y nosotros te buscaremos referencia.

Inmunología

Publicación trimestral en línea de la Sociedad Española de Inmunología.
ISSN (digital): 0213-9626

www.inmunologia.org

Coordinación: Rafael Sirera (General),
M. Luisa Vargas (Clínica) y
Jesús Gil (Divulgación)

Asistente editorial: Laura Grau

Comité editorial:	Carmen Cámara	Manuel Muro
	Javier Carbone	Pedro Roda
	Alfredo Corell	Jesús Sánchez
	Fernando Fariñas	Silvia Sánchez-Ramón
	Carmen Martín	David Sancho

Secretaría Técnica: C/ Melchor Fernández Almagro 3. 28029 Madrid
(laura.grau@cnic.es) Tel: (+34) 91 4531200 ext. 1166



● Para futuras colaboraciones:

1. Descarga las [instrucciones a los autores aquí](#).
2. Puedes contactar directamente con los coordinadores pulsando en el enlace en su nombre al inicio de cada sección o subsección. ◀
3. Para comentarios, sugerencias o información sobre cómo anunciarse, contacta con la [Secretaría Técnica aquí](#).

● La responsabilidad del contenido de las colaboraciones publicadas en la revista Inmunología corresponderá a sus autores, quienes autorizan la reproducción de sus artículos e imágenes a la SEI exclusivamente para esta revista. La SEI no hace necesariamente suyas las opiniones o los criterios expresados por sus colaboradores.

● © **Sociedad Española de Inmunología, 2020**
Reservados todos los derechos. El contenido de la presente publicación no puede ser reproducido, ni transmitido por ningún procedimiento electrónico o mecánico, incluyendo fotocopia, grabación magnética, ni registrado por ningún sistema de recuperación de información, en ninguna forma, ni por ningún medio, sin la previa autorización por escrito del titular de los derechos de explotación de la misma.

Con el patrocinio de:

Edición: Alicia Irurzun (Editorial Hélice)
Diseño y maquetación: Antonio Robles (675 651 107)



BD



inmunotek
alergia e inmunología

INDICE DEL CONTENIDO



SEI
Sociedad Española
de Inmunología

	PORTADA
	Créditos
	Índice
	4 Nota de los editores
	5 TRIBUNA
	5
	6 PANORAMA
	6
	15
	17
	20 Inmunoensayo
	28 INVESTIGACIÓN
	28
	30 CLÍNICA
	30 Minirrevisión
	32
	36 Talleres
	39 Monoclonales
	43 Calidad
	45 DIVULGACIÓN
	45 A todos los públicos
	45 El rincón del socio
	48 Tira cómica

CÁMARA: **Comenzando 2020**

VV. AA.: **II Seminario sobre Avances en Inmunología e Inmunoterapia**

LÓPEZ-TRASCASA: **17th European Meeting on Complement in...**

ALSERAWAN: **Aspectos prácticos en aplicación clínica de terapia CAR-T**

SIRERA: **Entendiendo los mecanismos que conducen al escape...**

OTANO: **Prophylactic TNF blockade uncouples efficacy and...**

MARTÍN-NALDA, ARGUDO-RAMÍREZ y SOLER-PALACÍN: **Primer programa europeo de cribado...**

CUADRADO y SERRANO: **¿Existe el síndrome antifosfolípido seronegativo? El papel de...**

ALSERAWAN, HERNÁNDEZ y MOGA: **Reunión del GIQ y taller sobre IgA Hevylite® (II)**

SOBIESCHI y VARGAS: **Belimumab**

MARTÍN: **Tras la pista del monoclonal**

GIL: **El rincón de Segundo González**

SÁNCHEZ: **Nº 21: Un destino poco prometedor**

Sumario

Una nueva temporada para la revista

Hola a toda la comunidad SEI,

Iniciamos el año 2020 con un poco de retraso debido a algunos cambios estructurales en la revista y abordando la pandemia COVID-19 que, como no podía ser de otra forma, trataremos en el presente número desde el punto de vista inmunológico. Así, en la sección **PANORAMA** tenemos un **inmunoensayo** que nos describe cómo el coronavirus interacciona con nuestro sistema inmunitario: por un lado, evitando que se genere la respuesta a los interferones, y por otro lado, exacerbando la inflamación y el daño tisular. También encontraréis los resúmenes que han confeccionado los becarios de nuestro prestigioso curso de verano de la UIMP sobre “**Avances en inmunología e inmunoterapia**” en su segunda edición. Otro de los cursos que hemos desarrollado es el que se impartió en el Hospital Clínic de Barcelona sobre “**Aspectos prácticos en la aplicación de terapia CAR-T**”.

En la sección **CLÍNICA** se describe cómo en Cataluña se ha implantado satisfactoriamente la **cuantificación de TREC para la detección de la inmunodeficiencia combinada grave (IDCG) en los programas de cribado neonatal**. Después de dos años y medio de estudio, han consolidado su estrategia de detección, así como el protocolo de caracterización, diagnóstico y seguimiento de casos positivos. Así mismo, se intentará responder al siguiente reto diagnóstico: **¿Existe el síndrome antifosfolípídico (APS) seronegativo?** Existen pacientes con características clínicas de APS en los que no se detecta ninguno de los anticuerpos anti-fosfolípidos (aPL) incluidos en los criterios de diagnóstico de APS, y para describir a este tipo de pacientes, se definió el concepto de APS seronegativo (APS_{sn}). A continuación, se analizan los resultados del Taller de Inmunoquímica de 2019 donde se continuó el estudio de la **utilidad de Hevylite® como alternativa a la electroforesis de proteínas en suero para la identificación y cuantificación de componentes monoclonales (CM) de difícil caracterización**. Finalmente, la minisección de

Calidad hace una reflexión sobre el manejo de los fármacos biológicos y su correcta utilización para mejorar la eficacia, la seguridad y la eficiencia de los recursos.

En la sección de **DIVULGACIÓN** de este número sólo contaremos con **El rincón del socio**, donde tenemos la entrevista a **Segundo González**, profesor de Inmunología en el Departamento de Biología Funcional de la Universidad de Oviedo. Su tema de trabajo es la terapia basada en células CAR-NK, que, a diferencia de los linfocitos T, no están limitadas por la presentación antigénica en el contexto del MHC y podrían ser las candidatas ideales para crear una fuente universal de células citotóxicas para terapia.

En estas líneas queremos informaros de que nuestro compañero **Jesús Gil** ya no puede seguir coordinando la sección de **DIVULGACIÓN**, aunque tiene el firme compromiso de seguir elaborando *El rincón del socio*, pues mantendrá el cargo de coordinador de embajadores de la SEI y continúa en contacto con los socios. Creo que es momento de reconocer a Jesús la labor tan grande que ha realizado durante estos años para la difusión de la inmunología al público en general, con las asociaciones de pacientes y para darnos a conocer entre nosotros mismos. Ha trabajado con mucho empeño e iniciativa y de forma muy innovadora, y conectado directamente a los requisitos e inquietudes de la sociedad. Los que coordinamos la revista y la Junta de la SEI le vamos a echar mucho de menos y somos conscientes de lo difícil que va a ser sustituirle. Desde aquí le deseamos muy buena suerte en su futuro profesional. Muchas gracias, Jesús.

Esperemos que os resulten interesantes los contenidos que hemos elaborado gracias a vuestra participación.

RAFAEL SIRERA
M. LUISA VARGAS





Comenzando el 2020

CARMEN CÁMARA Hospital Universitario La Paz. Madrid.

El principio del año ha estado dominado, desde el punto de vista informativo, por el impacto de la propagación del coronavirus SARS-CoV-2 a nivel mundial. Todos estamos siguiendo el alud de información al que nos enfrentamos cada mañana, en el que en ocasiones es difícil discernir entre datos objetivos científicos (tanto epidemiológicos como patogénicos), pseudocientíficos o incluso amarillismos alarmistas. Un grupo especialmente sensible a toda esta información lo constituyen nuestros pacientes, dado que una gran mayoría de ellos son inmunodeprimidos, bien por inmunodeficiencias primarias o más frecuentemente secundarias (fármacos inmunosupresores, trasplante de progenitores hematopoyéticos, neoplasias hematológicas, etc.)

Ante esta situación, la Sociedad Española de Inmunología decidió colaborar con la Sociedad Española de Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica (EIMC) en la elaboración de un documento de recomendaciones para la prevención frente al coronavirus SARS-CoV-2 en pacientes inmunodeprimidos. Dicho documento se colgó en la página web de ambas sociedades para que fuera de fácil consulta para cualquier socio o cualquier persona interesada. Esperamos que esta información os haya sido de utilidad.

Aprovechamos también esta TRIBUNA para comunicaros los cambios que hemos realizado en la forma de gestionar nuestra Sociedad. En los últimos años, el aumento de número de socios

(estamos rozando ya el número 1000) ha hecho que cada vez fuera más compleja la gestión administrativa. Por eso se decidió convocar un concurso para contratar una empresa que nos gestionará de forma conjunta todas las facetas administrativas de nuestra Sociedad (gestión de socios, web, redes sociales, congresos, etc.). Se presentaron cinco empresas, siendo la ganadora el Grupo Pacífico. Se va a hacer un traspaso escalonado, aprovechando el momento para realizar una actualización del perfil de socio. Os solicitamos vuestra colaboración en este punto, que creemos muy importante para poder establecer un adecuado plan estratégico según las características de nuestros asociados.

No quiero acabar esta TRIBUNA sin agradecer todo el esfuerzo del grupo de personas que han realizado estas funciones para la SEI (espero no olvidarme a nadie): Jesús Sánchez, Jesús Gil, Rafael Sirera, Laura Grau, Roger Colobrán... y, por supuesto, Mercé Bayo. Dejo a Mercé en último lugar para agradecerle muy especialmente su dedicación a lo largo de todos los años, ha sido el puntal de nuestra Sociedad y espero que la nueva secretaria técnica aprenda a cuidar a los socios tan bien como lo ha hecho ella. ¡Gracias por todo, Mercé!

Un abrazo para toda la Comunidad SEI

CARMEN CÁMARA
Junta Directiva SEI



**** Recomendaciones par la prevención frente al coronavirus SARS-CoV-2 en pacientes inmunodeprimidos**



Santander, del 26 al
30 de agosto de 2019

II Seminario sobre: AVANCES EN INMUNOLOGÍA E INMUNOTERAPIA

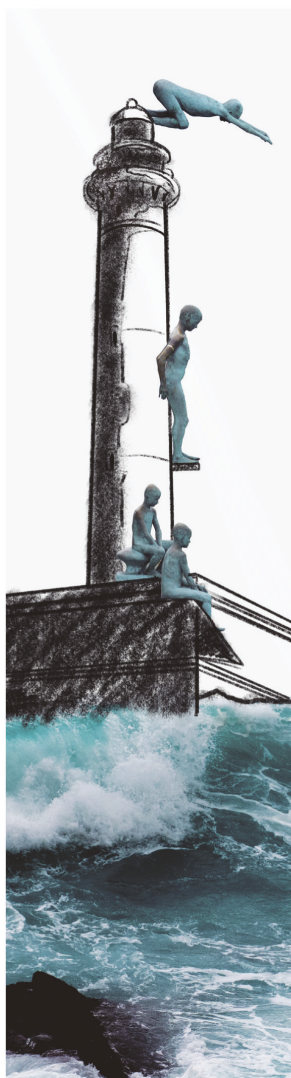
UIMP

Universidad
Internacional
Menéndez Pelayo

UIMP

Universidad Internacional
Menéndez Pelayo

SANTANDER 2019



SEMINARIO

II Seminario sobre
avances en Inmunología
e Inmunoterapia

África González Fernández

Del 26 al 30 de agosto

www.uimp.es

Este informe, que cubre las principales sesiones del seminario, ha sido elaborado por los miembros de la SEI a los que se les concedió una beca de la sociedad. Compilado por LAURA GRAU y revisado por RAFAEL SIRERA.

Lunes, 26 de agosto

INMUNOTERAPIA EN ENFERMEDADES INFECCIOSAS

Carmen Álvarez-Domínguez explicó la respuesta inmune frente a distintos grupos de patógenos; y sus elementos más relevantes para evitar la fase final de lesión tisular y deterioro funcional en el proceso infeccioso. En el caso de las bacterias extracelulares, el sistema inmune emplea el complemento y la fagocitosis (innatos) así como la producción de anticuerpos opsonizantes y neutralizantes y la expansión clonal de linfocitos T (LT, adaptativos). Sin embargo, estas bacterias presentan mecanismos de evasión (ácidos siálicos, factores de virulencia, cápsulas, superantígenos, etc.) que favorecen enfermedades facilitadas por un exceso de inmunidad. Por otro lado, en una infección vírica, los principales mecanismos inmunes son la inhibición de la infección por secreción de IFN tipo I, la producción de IFN- γ y la citotoxicidad por NK (innatos), la producción de anticuerpos neutralizantes y la expansión de LT (adaptativo). Para evadir la inmunidad, los virus presentan mecanismos como la variación antigénica, la

inmunosupresión, la interferencia con las vías de presentación y el establecimiento de nichos intracelulares. Por su parte, las bacterias intracelulares (obligadas o facultativas) son menos tóxicas pero también inaccesibles para el complemento y los anticuerpos, y sobreviven en el fagocito, por lo que es necesaria la inmunidad celular para activar a los fagocitos vía IFN- γ y eliminarlas finalmente. Los mecanismos de evasión abarcan desde el bloqueo de la fusión del endosoma con el lisosoma hasta el bloqueo de la presentación antigénica, y son responsables de enfermedades tales como la reacción de hipersensibilidad retardada y la inflamación granulomatosa.

Margarita del Val discutió sobre nuevas vacunas. En el caso del virus de la influenza, se está intentando desarrollar una aproximación por medio de pequeños anticuerpos VHH que hacen diana en una zona altamente conservada de la hemaglutinina, con el fin de sustituir la vacunación anual frente a las zonas variables del agente infeccioso. En el caso del virus del papiloma, la vacuna actual, que está basada en subunidades y es nonavalente, genera una respuesta potente y eficaz. En este punto recalcó la importancia del concepto “inmunidad de grupo”, según el cual la inmunización del mayor número posible de individuos genera un efecto protector mayor, demostrado con la vacunación del sexo femenino con dicha vacuna; efecto bloqueado actualmente en Europa con el virus del sarampión, causante de una profunda inmunodepresión B y donde la falta de inmunidad colectiva (< 95 %) desencadena el aumento del número de infecciones.

Belén de Andrés habló sobre vacunas actuales y en desarrollo para agentes infecciosos. Resaltó los objetivos claves del diseño: capacidad de generar una respuesta T-dependiente con el fin de desarrollar células B plasmáticas y de memoria; seguridad, eficacia, larga duración y ausencia de toxicidad; y coste reducido. Por otro lado, según la tecnología empleada, encontramos distintos tipos: inactivadas, atenuadas, de subunidades recombinantes, de toxoides, conjugados de proteínas, de péptidos sintéticos o de DNA. Por último, es de gran relevancia el descubrimiento de los adyuvantes, compuestos integrados y administrados en las vacunas, que mejoran la respuesta inmune.

—Antonio Tapia

Martes, 27 de agosto

ANTICUERPOS MONOCLONALES: enfermedades autoinmunes

Africa González-Fernández inició este bloque de charlas sobre anticuerpos monoclonales (AcMo) en enfermedades autoinmunes, hablando sobre bases, historia y modificaciones. Se tocaron puntos desde la cronología de los primeros indicios de los anticuerpos, con la vacunación y la sueroterapia, y se mencionó al padre de la inmunología humoral, Paul Erlich, y sus grandes descubrimientos en cuanto a los anticuerpos; se describió la estructura molecular y genética de los anticuerpos, así como los factores que influyen en su diversidad, haciendo hincapié en la hipermutación somática. Se mencionaron también las funciones de los anticuerpos, tanto de membrana como secretados. Una vez dada esta introducción, se entró en el tema mencionando a los pioneros César Milstein y George Köhler en la producción de AcMo bajo la técnica de hibrodoma (célula B + célula de mieloma) donde, a través de la inmunización en ratones, se podían generar AcMo que luego serían separados por distintas técnicas. Esta técnica aún se usa por su bajo coste, pero ha sido reemplazada por otras más modernas que han permitido aumentar la eficiencia en producción y crear AcMo humanizados y con menos efectos adversos que los creados con provenientes de ratón, tal como los hechos con técnicas como inserción de transgenes en ratones o bibliotecas de fagos. Los AcMo tienen distintas aplicaciones, ya sea de diagnóstico *in vivo* o *in vitro*, purificación de compuestos (por ej., interferón) y como agentes terapéuticos (AcMo *anti-checkpoint* en el cáncer); actualmente hay muchos ensayos clínicos que apuestan por usarlos en terapias.

Por otro lado, **Marcos López-Hoyos** hizo un recorrido por las principales enfermedades autoinmunes sistémicas y los AcMo usados como estrategias terapéuticas. Comenzó hablando sobre las estrategias FAME (Farmacos Modificadores de la Enfermedad) en la artritis reumatoide (AR): se resaltó su uso temprano en el diagnóstico reciente, el uso adecuado de corticoides y la bajada rápida de los mismos y, ante signos de mal pronóstico, el uso de biológicos —entre ellos, los AcMo— debe ser considerado. Los biológicos usados en la AR son los anti-TNF y el tozilizumab, acompañados de un fármaco clásico; ante la falla de un anti-TNF, se debe considerar un biológico con otro mecanismo de acción. Es posible que existan casos en los que se usen más de dos biológicos y hasta el uso de cuatro o más ha sido reportados. En cuando al lupus, a pesar del fracaso de

los estudios LUNAR y EXPLORER con rituximab, es posible que fallas en el diseño de los estudios no permitieran ver los beneficios, pues en estudios observacionales en lupus graves se han visto beneficios. El único AcMo indicado en el lupus es el belimumab. En el caso de la vasculitis ANCA, el tratamiento con más beneficio es el rituximab; en vasculitis de grandes vasos, anti-IL-6; y en el resto de patologías (esclerosis sistémica, síndrome de Sjögren, miopatías inflamatorias, etc.), hay ensayos en marcha, todavía sin respuestas definidas, esperándose próximos avances.

–Kelly Josefina Coba

ANTICUERPOS MONOCLONALES: OTRAS PATOLOGÍAS

Carmen Cámara explicó que las enfermedades autoinflamatorias comprenden aquellos trastornos clínicos caracterizados por una inflamación anormalmente aumentada, y mediados, sobre todo, por células y moléculas del sistema inmunitario innato. Dentro de las principales vías fisiopatológicas implicadas, encontramos las inflamomasopatías, deficiencia de ADA2, interferonopatías y ubiquitinopatías. Habitualmente cursan con neutrofilia, leucocitosis, trombocitosis, elevación de reactantes de fase aguda, fiebre, exantema, serositis, aterogénesis, etc. Tienen una baja prevalencia y son poco conocidas. Hay que sospecharlas ante la presencia de fiebre de origen desconocido o presencia de inflamación sistémica haciendo el diagnóstico de exclusión con posibles infecciones, neoplasias y enfermedades autoinmunes clásicas. Actualmente existen varias estrategias terapéuticas que implican diferentes mecanismos de acción: colchicina, bloqueantes de IL1- β , IL-18 como potencial diana terapéutica, anti-TNF, inhibidores de la vía JAK/STAT, etc.

Alfredo Corell disertó sobre enfermedades degenerativas como el Alzheimer, producida por acumulación interneuronal de proteína beta-amiloide y por reordenamiento de los microtúbulos llevando a una acumulación de proteínas Tau. La prevalencia en Europa es del 7 %, lo que lleva al diseño de tratamientos cuyos mecanismos de acción son anti-Tau o consisten en bloquear la liberación o neutralizar el beta-amiloide. Se han realizado y existen muchos ensayos clínicos a día de hoy; no obstante, presentan el inconveniente de que fallan en el punto final por aparición de reacciones adversas graves. Por último, habló sobre la degeneración macular asociada a la edad (DMAE), principal causa de ceguera en el mundo, existiendo múltiples factores de riesgo predisponentes (genéticos, obesidad, exposición directa a la luz solar, hipertensión, tabaco, iris claro) y otros preventivos (dieta equilibrada, ejercicio físico, uso de gafas de sol, tomar suplementos de vitaminas y minerales específicos para la vista). El desarrollo de fármacos anti-VEGF ha supuesto un gran avance en el tratamiento de dicha patología y se continúa investigando con fármacos con diferentes dianas terapéuticas.

Arantzazu Alfranca explicó la patología alérgica como una reacción de hipersensibilidad de tipo 1 en la que, en un primer paso, ocurre una sensibilización al alérgeno de interés, y más tarde ocurre una reexposición a este, lo que provocará una respuesta inmediata o tardía en la que estarán implicadas diferentes células efectoras, mediadores y factores de transcripción (GATA-3); por ello existe la necesidad de mecanismos reguladores (células T reguladoras y B reguladoras) que sean capaces de actuar en estos casos. Actualmente, para poder conseguir una tolerancia a esta respuesta exacerbada del sistema inmunitario, existe la inmunoterapia en alergia. Por una parte, la inmunoterapia no específica de alérgeno, que emplea: 1) Anticuerpos monoclonales (anti-IgE, IL-4R α , IL-5); 2) Moléculas pequeñas: DARPIN (proteínas de pequeño tamaño que reconocen dianas con alta especificidad, proteínas de fusión Fc ϵ -Fc γ y oligonucleótidos que se unen y degradan mRNA de GATA-3 y antagonistas del receptor de PGD2); 3) Inmunomoduladores bacterianos (probióticos); 4) Adyuvantes en ausencia de alérgeno (inmunopotenciadores). Y, dentro de la inmunoterapia específica de alérgeno, están las vacunas (administración de los alérgenos a los que está sensibilizado el paciente para conseguir su tolerancia progresiva).

–Clara San Bartolomé

ANTICUERPOS MONOCLONALES: MONITORIZACIÓN

Sara Calleja, en su charla de monitorización de biológicos, nos recordó que el uso de los anticuerpos monoclonales se extiende a múltiples enfermedades, más allá de las mediadas por el sistema inmunológico, generalmente utilizados para patologías crónicas (lo que se traduce en años de tratamiento) y con un coste económico elevado. Calleja recomendó realizar monitorización antes del tratamiento, durante el tratamiento y tras el tratamiento. Previo al tratamiento, se debe realizar despistaje de infecciones latentes (entre ellas, tuberculosis, o las producidas por VHB, VHC, VIH, etc.); así mismo, se debe valorar el riesgo infeccioso mediante niveles de IgG, IgA, IgM e inmunización frente a microorganismos y, en caso de requerirlo, realizar profilaxis (antibióticos, vacunación etc.).

La monitorización de anticuerpos monoclonales durante el tratamiento modifica la toma de decisiones terapéuticas; sin embargo, es importante recalcar que la eficacia de estos fármacos depende de factores relacionados con el paciente (como el índice de masa corporal), con la enfermedad (como la carga inflamatoria de cada patología), y con el fármaco (como la biodisponibilidad, farmacocinética e inmunogenicidad del mismo). Las técnicas empleadas actualmente para realizar la monitorización de biológicos incluyen ELISA (el más utilizado), RIA, y cromatografía líquida de alta resolución, entre otras; permitiendo medir niveles de fármaco libre, anticuerpos antifármaco libres (debe medirse en niveles valle) y anticuerpo antifármaco formando inmunocomplejos (se debe realizar mediante técnicas de disociación ácida). Estos resultados son de utilidad en la práctica clínica para pacientes con fracaso terapéutico primario o secundario, reacciones infusionales, para optimización de dosis (coste-efectividad) y como guía para la retirada de fármacos.

Marcos López-Hoyos habló de la inmunogenicidad de los fármacos biológicos, sobre todo basándose en fármacos anti-TNF, resaltando que los más inmunogénicos son el infliximab y el adalimumab, y que la vía de administración subcutánea es más inmunogénica que la intravenosa y oral. La monitorización de la terapia biológica permite, en caso de fracaso terapéutico, aumentar la dosis del fármaco si se identifican niveles infraterapéuticos, y cambio de fármaco o introducción de fármacos inmunosupresores ante la presencia de anticuerpos antifármaco. Por otra parte, en pacientes con buena respuesta clínica, permite decidir cuándo se puede disminuir la dosis o espaciar los intervalos de administración para realizar una terapia más optimizada. Así mismo, al comparar la inmunogenicidad entre biológicos y biosimilares, no se encuentran diferencias en la inmunogenicidad con el adalimumab, infliximab, ni rituximab; sin embargo es importante destacar que los kits para la detección de anticuerpos antifármaco son desarrollados para los fármacos originales y no para los biosimilares.

Para concluir, el ponente resaltó que la revisión de la bibliografía publicada sobre la inmunogenicidad de los biológicos es complicada por la heterogeneidad de métodos de detección, la diversidad de las patologías, distintas dosis o tiempos de medición, entre otros factores que dificultan la interpretación de los resultados.

–Claudia Rita

Miércoles, 28 de agosto

ABORDAJE MULTIDISCIPLINAR DE LA INMUNOTERAPIA EN AUTOINMUNIDAD

Sara Calleja, del Complejo Asistencial Universitario de León, inició el bloque tocando el tema de la inmunoterapia en la uveítis, resaltando la importancia de la interconsulta y el manejo conjunto y multidisciplinar, así como la interconexión de la especialidad de oftalmología con otras especialidades

en relación a la patología ocular inflamatoria. Hizo luego un pequeño recorrido por conceptos básicos de oftalmología, y de uveítis, con una incidencia entre 20 y 50 casos por 100 000 al año, dentro de cuyas causas no infecciosas se encuentran las inmunológicas. En cuanto al abordaje diagnóstico, incidió sobre la importancia de la historia clínica y de la revisión y descripción oftalmológica, así como de los diagnósticos diferenciales basados en su presentación clínica (granulomatosa o no granulomatosa), unilateral, bilateral, por su localización, anterior, media, posterior, o panuveítis. En cuanto a las pruebas complementarias, se comentó que se deben solicitar pruebas básicas, inmunológicas, de microbiología, de imagen y anatomía patológica. El tratamiento tiene base en el control agudo, control de recurrencias y las complicaciones. La terapéutica puede ser variada y puede ir desde tratamientos locales hasta sistémicos, según sea el caso necesario; se deben tener en cuenta la enfermedad de fondo y los objetivos a seguir. Se tiene cierta experiencia con algunos fármacos, como algunos anti-TNF (HUMIRA) y anti-CD20 en enfermedades autoinmunes sistémicas, y con inmunosupresores sistémicos, con el problema de los efectos adversos que muchas veces dificultan la adherencia al tratamiento. La uveítis es una patología muy heterogénea que necesita una actualización constante y manejo conjunto.

Eva Martínez-Cáceres, del Servicio de Inmunología Hospital Germans Trias i Pujol, habló de la inmunoterapia en la esclerosis múltiple. Iniciando la charla con un breve resumen sobre la enfermedad y la historia natural, señaló que el pensamiento evolutivo en la terapéutica de la enfermedad, inicialmente basado en mantener la eficacia clínica solo durante el tratamiento activo de la misma, ha avanzado al más actual de tratar de producir una eficacia clínica prolongada más allá del tratamiento activo y buscando inducir una remisión con la administración de ciclos cortos, mas no de forma permanente como hasta ahora. La ponente abordó la revisión teniendo cuenta un esquema de la vía de activación y migración del linfocito, en el ganglio linfático: la droga usada actualmente es el fingolimod, que bloquea el receptor 1 de la esfingosina fosfato (S1P), impidiendo la salida de linfocitos del ganglio; el dimetil fumarato reduce la actividad de NF- κ B con un papel neuroprotector potencial activando Nrf2; también mencionó al ocrelizumab, un anti-CD20, que causa destrucción de linfocitos B.

Así mismo, se están probando terapias que intentan restaurar la tolerancia inmunológica, como las terapias con células dendríticas inmaduras. Actualmente existen estudios en fase I con estas células dendríticas cultivadas en medio enriquecido con vitamina D3 en pacientes activos con esclerosis múltiple.

—Kelly Josefina Coba

TRASPLANTE

Comenzamos la sesión de trasplantes con la intervención de **María Francisca González-Escribano**, del hospital Virgen del Rocío de Sevilla, quien nos habló en primer lugar de los biomarcadores en rechazo de trasplante; aunque se refiere a todos los tipos de trasplante de órgano sólido, se centró sobre todo en trasplante renal.

Los biomarcadores de riesgo se analizan pretrasplante y permiten identificar a los pacientes susceptibles de presentar un rechazo, por lo que están relacionados con la compatibilidad HLA y la producción de anticuerpos frente a estas moléculas; de esta forma se puede seleccionar la mejor pareja donante receptor.

Los biomarcadores de diagnóstico son aquellos que permiten confirmar si se trata de un rechazo ante un paciente con sintomatología o alteración analítica sugestiva. El mejor biomarcador para valorar el rechazo es la biopsia renal; sin embargo, es agresiva y tiene alto grado de variabilidad en cada centro, por lo que se ha intentado estandarizarla mediante los criterios de Banff, que están relacionados con la detección de anticuerpos frente al donante, evidencia de interacción entre los anticuerpos y el endotelio, y, finalmente, objetivar daño en el tejido.

En cuanto a la inmunoterapia del trasplante, **Marcos López-Hoyos**, del hospital de Valdecilla, resaltó la importancia de los tratamientos inmunomoduladores e inmunosupresores para el tratamiento del rechazo del injerto mediado por anticuerpos. Destacó que el paciente hipersensibilizado puede ser trasplantado evitando HLA para el cual se encuentra sensibilizado, así como realizando técnicas de desensibilización mediante plasmaféresis, inmuoadsorción, inmunoglobulina intravenosa, timoglobulina, o rituximab, entre otras. Nos informó sobre una terapia novedosa llamada IdeS (*Immunoglobulin G-degrading enzyme of Streptococcus pyogenes*), que consiste en administrar una proteasa que lisa la IgG total de forma rápida y temporal; el grupo de trabajo del Dr. Montgomery en Estados Unidos ha tratado pacientes hipersensibilizados con IdeS y ha observado una disminución de la MFI de los anticuerpos anti-HLA en 24 horas, generando una ventana de oportunidad para realizar el trasplante en este subgrupo de pacientes. Finalmente, se recalcó que, en un futuro no muy lejano, la inducción de tolerancia inmunológica jugará un papel crucial en el tratamiento del rechazo del trasplante; actualmente se realizan múltiples ensayos clínicos que buscan inducir tolerancia mediante la generación de células T reguladoras (Treg).

Para culminar esta sesión, la directora del curso, **África González-Fernández**, discutió sobre la terapia génica en el trasplante, mediante la cual se pueden generar órganos no inmunogénicos, inducir tolerancia y aumentar la disponibilidad de órganos. Sin embargo, actualmente se encuentra en fase experimental, puesto que los procesos que se deberían controlar para evitar el rechazo y generar tolerancia son muy complejos, dificultando su aplicación clínica.

Además de la terapia génica, nos ilustró sobre el resurgir del xenotrasplante mediante la inhibición de expresión del epítipo GAL (para el cual los humanos tenemos anticuerpos naturales) y mediante la obtención de animales multitransgénicos de manera más precisa y en menos tiempo, gracias a la tecnología de edición del genoma CRISPR/Cas9.

—Claudia Rita

INMUNOTERAPIA EN INMUNODEFICIENCIAS

Carmen Cámara explicó que los preparados de inmunoglobulinas están indicados como terapia sustitutiva en inmunodeficiencias primarias que presenten alteración de la producción de anticuerpos, y en inmunodeficiencias secundarias con infecciones bacterianas recurrentes o severas con tratamiento antibiótico inefectivo y niveles de IgG < 4 g/L. También presentan indicación como terapia inmunomoduladora en trombocitopenia inmune primaria, síndrome de Guillain-Barré, enfermedad de Kawasaki, etc. Su producción se realiza a partir de hemoderivados que deben ceñirse a unos estándares de calidad para la obtención final de IgG purificada. A la hora de valorar un tratamiento con inmunoglobulinas sustitutivas, siempre manda la clínica del paciente y se cuenta con otras herramientas que nos pueden guiar en la decisión (niveles séricos de inmunoglobulinas, respuesta vacunal a neumococo/*Salmonella*, valoración del compartimento de memoria). La dosis empleada de inmunoglobulinas intravenosas es de 400 mg/kg de peso cada 4 semanas. También se han desarrollado inmunoglobulinas subcutáneas que pueden ser autoadministradas por el propio paciente.

Sara Calleja habló sobre el amplio espectro de desregulación inmunológica que comprenden las IDP, desde la susceptibilidad a infecciones hasta la autoinmunidad, autoinflamación y desinhibición del complemento. Explicó varios ejemplos de estas patologías, así como sus posibles maneras de tratarlas, haciendo hincapié en que aquellos pacientes con IDP y que presenten patología autoinmune/autoinflamatoria/desinhibición del complemento, pueden ser candidatos para recibir un tratamiento específico inmunomodulador/inmunosupresor. De modo que es necesario conocer la genética y fisiopatogenia en cada paciente para poder implementar la medicina personalizada en las IDP.

Carmen Cámara discutió sobre el trasplante de progenitores hematopoyéticos alogénico como terapia curativa para las IDP; excluyendo las CVID, su empleo más frecuente es en SCID (indicación rápida *screening* neonatal), WAS y CGD. Las fuentes de TPH son médula ósea, células madre de sangre periférica y células de cordón, cada una con sus respectivas ventajas e inconvenientes. La selección de un donante adecuado es muy importante para una mejor supervivencia de estos pacientes y se debe trasplantar en centros que tengan amplia experiencia. También se ha visto que en adultos jóvenes (18-24 años) puede ser una opción de tratamiento segura y efectiva en aquellos con IDP graves, y se ha de considerar como tratamiento de elección en aquellos pacientes que dispongan de un donante apropiado. En cuanto a la terapia génica, es un proceso autólogo que no necesita acondicionamiento: se recogen células madre del paciente para cultivarlas con un vector viral portador de la secuencia correctiva del gen y estas células multipotentes genéticamente modificadas se inocularán en el individuo. Actualmente es una opción de primera línea en SCID (ADA y cadena γ), WAS y CGD, si no hay donante compatible o fallo de TPH previo.

—Clara San Bartolomé

Jueves, 29 de agosto

INMUNOTERAPIA EN CÁNCER: BASES

Juan José Lasarte habló sobre antígenos tumorales y presentación antigénica. En un contexto de linfocitos T (LT), con este último proceso se produce una sinapsis inmunológica que puede desencadenar dos situaciones: reconocimiento de antígenos extraños y activación mediada por tres señales (fosforilación de CD3z, coestímulos y citoquinas); o reconocimiento de autoantígenos e inducción de tolerancia central (vía delección clonal) y periférica (vía anergia y supresión por linfocitos T reguladores). Por otro lado, desde el punto de vista de la utilidad en inmunoterapia del cáncer, se pueden clasificar los antígenos en baja o alta especificidad tumoral. Mientras que los primeros son aquellos expresados únicamente en tumores (debido a mutaciones o a su expresión solo en momentos previos del desarrollo) y son ideales como dianas en inmunoterapia, los segundos son aquellos que también se expresan en tejidos sanos pero, generalmente, a niveles distintos. Debido a esto, cabe destacar que los tumores con mayores tasas de mutaciones son más inmunogénicos y, por tanto, responden mejor a la inmunoterapia.

Arantzazu Alfranca explicó las herramientas inmunitarias antitumorales de las que disponemos. La estabilidad del sistema inmune depende del balance dinámico entre factores activadores e inhibidores, donde una predominancia de los primeros puede originar autoinmunidad y una ganancia en los segundos puede facilitar un proceso tumorigénico. Por otro lado, la hipótesis de la edición tumoral postula que la presión de la inmunovigilancia sobre el tumor provoca la selección de las células tumorales poco inmunogénicas. En esta misma línea, y dentro de los mecanismos de escape tumoral, se encuentran la alteración de la presentación antigénica, la insensibilización a la respuesta inmune y la inducción de un microambiente inmunosupresor. Por ejemplo, en el caso de la citotoxicidad mediada por células NK, el tumor sobreexpresa receptores para inclinar la balanza hacia la inhibición. Por último, existen diferentes estrategias antitumorales: aumento de la inmunogenicidad del tumor (vía virus oncolíticos, vacunas antitumorales e inhibición de *checkpoints* inmunes), incremento de la eficacia de la función efectora (por modulación de *checkpoints* y transferencia adoptiva celular) y modulación del microambiente tumoral (mediante la inhibición de células supresoras).

Manel Juan disertó sobre el papel del sistema inmunitario en las terapias actuales. Mientras que la cirugía, acompañada de quimio y radioterapia, supone el tratamiento principal en la actualidad, la inmunoterapia busca mejorar una respuesta inmune que ya se encuentra presente en el organismo pero inhibida. Tanto

la quimioterapia (sistémica) como la radioterapia (localizada) proporcionan una liberación de antígenos al medio que pueden favorecer un aumento de la inmunogenicidad y, por tanto, de la respuesta inmune. Sin embargo, los tumores presentan diversos mecanismos de evasión: represión de moléculas HLA y de antígenos asociados a tumor; inhibición de la coestimulación y moléculas de adhesión implicadas en la sinapsis inmune; inmunoselección de subclones con diferencias antigénicas que favorecen su supervivencia; mediadores inmunosupresores (ligandos de *checkpoints*, linfocitos T reguladores, etc.).

–Antonio Tapia

INMUNOTERAPIA EN CÁNCER: HUMORAL

Esta sesión fue iniciada con dos charlas del ponente **Juan José Lasarte** sobre mecanismos de acción de los anticuerpos antitumorales. Inicialmente, se centró en la acción antitumoral directa de los mismos, destacando su capacidad para hacer de puente entre una célula tumoral y una inmune, promoviendo la activación de esta última. Otra posibilidad que ofrecen estos anticuerpos es la unión a receptores celulares. Hoy en día, el campo en el que más se aplican es en síndromes linfoproliferativos B, ya que son patologías que presentan una gran variedad de dianas tumorales que facilitan que se encuentre un anticuerpo adecuado.

Seguidamente, se habló sobre el uso de anticuerpos biespecíficos en inmunoterapia en cáncer. Estos anticuerpos han sido posibles gracias a la ingeniería de proteínas, la cual nos permite diseñar y usar anticuerpos con una estructura distinta a la canónica. Estas moléculas permiten unir a la célula tumoral una célula T para promover su eliminación, pudiendo sumarse también a este dúo otras células accesorias que aceleren el proceso. Esto otorga a los biespecíficos una capacidad directa y pasiva de eliminación de células tumorales, que ha hecho que se hayan aprobado ya varios para su empleo en ensayos clínicos.

El final de esta primera parte de la sesión se centró en inmunomodulación no pasiva del sistema inmune, que tiene como objetivo potenciar el mismo, mediante el uso de anticuerpos que controlen los *immune checkpoints*. Se destacaron PD-1 y CTLA-4, dos moléculas cuya activación cursa con un apagado de la respuesta inmune. Por ello, anticuerpos frente a PD-1 se emplean en clínica para tratar varios tipos de tumores, con la intención de bloquear la unión a su ligando y se facilite la eliminación del tumor. También existen anticuerpos α -CTLA-4, que son capaces de unirse a linfocitos T reguladores que expresan esta molécula, y promover su muerte, consiguiendo así también inhibir el freno de la respuesta inmune que generan estos linfocitos.

A continuación, el ponente **Manel Juan** habló sobre el tratamiento de tumores sólidos y hematológicos, destacando que la principal diferencia entre ellos es que los hematológicos provienen de una única célula, que suele tratarse de un linfocito B. Si nos centramos en inmunoterapia de tumores sólidos, la primera opción en clínica es la cirugía. Por otro lado, para tumores hematopoyéticos, la inmunoterapia celular cobra un mayor peso como opción de tratamiento, ya que la cirugía no es posible. El principal problema que encontramos en estos últimos es que se puede afectar al sistema inmune del paciente.

Finalmente, el ponente **Juan José Lasarte** cerró la sesión explicando la importancia de conseguir inducir una muerte inmunogénica en el tumor (consiste en una muerte de la célula tumoral más parecida a la necrosis que a la apoptosis). Se ha visto que esto puede generar una reversión tumoral, no solo en el sitio donde tratamos el tumor, sino en lugares lejanos al mismo (puede deberse a producción de factores que activan de forma generalizada al sistema inmune, aunque no hay evidencias experimentales).

–Oscar Aguilar

INMUNOTERAPIA EN CÁNCER: CELULAR

Esta sesión comenzó con una charla de **Carmen Álvarez-Domínguez** sobre inmunoterapia con células dendríticas (CD). El empleo de estas células es interesante porque son capaces de activar la respuesta inmune y causar regresión tumoral sin generar toxicidad ni rechazo inmunológico. Ensayos clínicos demuestran que logran incrementos significativos de supervivencia y que producen una respuesta inmune específica y de larga duración frente al tumor. De esta forma, existen vacunas preventivas (para prevenir el cáncer en personas sanas) y terapéuticas (para tratar tumores que ya se han desarrollado) de CD. Para el desarrollo de estas vacunas, se pueden obtener las CD desde monocitos, precursores hematopoyéticos circulantes en sangre o de la piel, existiendo estrategias *ex vivo* e *in vivo* para ello. Actualmente, existen ensayos clínicos para tratamiento de tumores con CD.

Seguidamente, **Manel Juan** discutió sobre la inmunoterapia con LAK (*lymphocyte activated killers*) y TIL (*tumor-infiltrating lymphocytes*). En ambos casos es muy importante un correcto acondicionamiento de las células para que funcionen. Por un lado, los LAK son linfocitos que se extraen de sangre periférica del paciente y se cultivan con IL-2, generándose así linfocitos no restringidos por MHC que son capaces de tener una actividad citotóxica aumentada respecto a la inicial frente al tumor cuando se vuelven a introducir en el paciente. Los TIL suponen una variante de las células LAK, siendo la idea la misma, pero con la diferencia de que se generan linfocitos restringidos por MHC, ya que se toman linfocitos del tumor directamente, y tienen resultados mucho más halagüeños que las LAK. El cáncer de mama avanzado supone una de las patologías sin resolver actualmente, y una de las opciones que se baraja para resolverlo es esta inmunoterapia.

Continuó la charla con el empleo de t-TCR (TCR transgénico) y células CAR-T (*chimeric antigen receptor*) en inmunoterapia. La técnica de los t-TCR se basa en tomar linfocitos de la sangre del paciente e introducirles un TCR restringido por MHC, además del TCR endógeno. Sin embargo, esta técnica presenta una serie de problemas e inconvenientes, como el hecho de que solo reconozcan moléculas de superficie, que han hecho que se haya dado paso al empleo de inmunoterapias basadas en células CAR-T.

Esta inmunoterapia consiste en la edición génica de linfocitos del paciente, introduciéndoles un TCR que reconoce un antígeno específico. Estas CAR-T han pasado por distintas etapas de desarrollo, existiendo así CAR-T de primera, segunda, tercera y cuarta generación, pudiendo incluir los linfocitos de esta última tanto elementos capaces de disparar las señales 1 y 2 de activación de linfocitos, como elementos que disparen la secreción de citoquinas, como moléculas bloqueantes de PD-1. Para todo esto, se transfectan los linfocitos con lentivirus. Existen ensayos clínicos en España basados en CAR-T dirigidos contra CD19 (marcador de células B) y BCMA (*B-cell maturation antigen*).

Finalmente, el ponente cerró la jornada de jueves dando unas pinceladas sobre la importancia de la producción industrial y local en farmacia e inmunología.

—Oscar Aguilar Sopena



17th European Meeting on Complement in Human Disease (EMCHD)

14 al 17 de septiembre de 2019
Madrid



*MARGARITA LÓPEZ-TRASCASA

Profesora Asociada. Inmunología
Universidad Autónoma de Madrid IdiPAZ Grupo 21

*en nombre del Comité Organizador Local



www.emchd2019.com

M A D R I D



Entre los días 14 y 17 de septiembre de 2019, se celebró en Madrid el 17th European Meeting on Complement in Human Disease (EMCHD) de la European

Complement Network (ECN). En esta ocasión, el congreso fue organizado por un Comité Local liderado por Santiago Rodríguez de Córdoba, y en el que han participado también Alberto López-Lera, Pilar Nozal, Pilar Sánchez-Corral, Elena Goicoechea, Manuel Praga, Agustín Tortajada, José Ramón Regueiro y Margarita López-Trascasa. Hay que destacar la participación de Emilia Arjona en la organización y supervisión de los aspectos prácticos del congreso. La organización contó con el auspicio de la SEI y la colaboración de CIBERER. Además, un gran número de patrocinadores apoyó económica y organizativamente el evento. El congreso fue un éxito de participación con más de 550 participantes de 31 nacionalidades diferentes, entre los que casi el 20 % pertenecían a la industria (farmacéutica, diagnóstica o biotecnológica). Las contribuciones científicas también desbordaron las expectativas, con más de 220 resúmenes presentados, de los cuales 44 fueron seleccionados por su excelencia científica para comunicaciones orales. La participación de españoles es la más numerosa del registro histórico.

El congreso estuvo precedido por la celebración del *Teaching Day*, una jornada dedicada a la docencia de aspectos generales del complemento y dirigida a los participantes con menos experiencia en el campo,

como son los investigadores pre y postdoctorales. Se presentaron cuatro ponencias: a) visión general del complemento; b) bases moleculares y estructurales de la función del complemento; c) complemento y enfermedad humana; y d) terapias basadas en complemento. Con más de 190 personas inscritas, las conferencias se completaron con unas sesiones prácticas de temática variada en la que 74 asistentes formaron grupos reducidos para el estudio de casos prácticos.

Además, coincidente con esta primera jornada, se celebró la séptima edición del Simposio sobre Glomerulopatías C3, en el que se discutieron los aspectos más novedosos sobre esta patología. En esta sesión se presentaron comunicaciones relacionadas con marcadores del sistema del complemento, modelos animales y aspectos relacionados con el trasplante. Hubo también amplias revisiones sobre la evaluación y el tratamiento de pacientes; entre ellas, una presentada por el grupo español GLOSEN. Cerraron el simposio representantes de compañías farmacéuticas que discutieron sobre los últimos ensayos clínicos basados en terapias biológicas frente al complemento.

Al día siguiente arrancaba el congreso propiamente dicho, el cual transcurriría durante dos días y medio. Las comunicaciones orales estuvieron distribuidas en ocho sesiones científicas de distinta temática: sistema del complemento y enfermedad (dividida en dos sesiones); estructura y función; genética; infección y autoinmunidad; interrelaciones con otros sistemas; terapias; y modelos animales. Cabe destacar que en la actualidad continúa siendo muy relevante el estudio de proteínas de la vía alternativa (como el Factor H y proteínas relacionadas) y de ciertos

fragmentos de activación del complemento (como anafilatoxinas, C3d o SC5b-9) en enfermedades como el síndrome hemolítico urémico, la glomerulopatía C3, la degeneración macular asociada a la edad, la nefropatía IgA o la diabetes tipo 2. Las comunicaciones en formato póster estuvieron organizadas bajo los mismos epígrafes que las sesiones orales; permanecieron expuestos durante todo el congreso y fueron presentados por los autores en dos sesiones. Se puede acceder a los resúmenes y a diversos artículos de revisión relacionados con el sistema del complemento desde el [enlace a la revista *Molecular Immunology*](#).

También se impartieron dos conferencias magistrales. La primera, por parte de Marina Botto, del Imperial College de Londres, analizó críticamente el conocimiento actual sobre la biología y las distintas funciones de C1q. La segunda, impartida por David Jayne, de la Universidad de Cambridge, revisó los hallazgos más recientes de la implicación del complemento en la patogenia de las vasculitis ANCA positivas y que justifican la inhibición del complemento para el tratamiento de las mismas.

El congreso albergó un *Lunch Seminar* sobre angioedema hereditario que inicialmente iba a ser impartido por Marco Cicardi y Christian Drouet, dos expertos en el campo. El fallecimiento inesperado del Dr. Cicardi en el mes de agosto hizo que fuera sustituido por Teresa Caballero y que se hiciera un obituario en su recuerdo. Teresa Caballero disertó sobre los tratamientos actuales en esta enfermedad y Christian Drouet sobre la variabilidad de mutaciones identificadas en el gen del inhibidor de C1 y su repercusión en la estructura tridimensional de la proteína.

Dos sesiones del congreso se dedicaron a la discusión de temas sobre los que actualmente existen controversias: la utilización de los modelos animales en las investigaciones relacionadas con el complemento y el significado del complemento intracelular. Ambas sesiones despertaron un

intenso debate entre los panelistas y los asistentes y resultaron ser muy estimulantes.

El comité de estandarización de técnicas de análisis de complemento, liderado por Michael Kirschfink y gestionado por INSTAND (Alemania), se reunió en esta nueva edición del EMCHD, donde se comentó que actualmente se pueden analizar hasta 20 parámetros del complemento y hay 180 laboratorios participantes. Se presentó un proyecto para generar un suero patrón para los distintos ensayos de complemento y se pretende convocar una reunión en 2020.

Así mismo, tuvieron lugar las reuniones del European Complement Network (ECN) y de la International Complement Society (ICS). En esta edición, se nombró a Elena Volokhina como nueva presidenta de ECN y Elena Goicoechea fue elegida nuevo miembro del mismo.

Durante el congreso tuvo lugar la concesión de las prestigiosas Medallas de Oro del ECN a Santiago Rodríguez de Córdoba, Seppo Meri y Michael Kirschfink, en reconocimiento a sus contribuciones y trayectoria en el área del complemento a lo largo de toda su trayectoria profesional.

En la sesión de clausura se hizo entrega de los premios a las mejores comunicaciones orales y pósters, así como bolsas de viaje, que se otorgaron entre los asistentes más jóvenes del congreso.



Foto proporcionada por la autora.



Aspectos prácticos en aplicación clínica de terapia CAR-T

 **Aula Clínic**

CLÍNIC
HOSPITAL UNIVERSITARI

Aspectos prácticos en aplicación clínica de terapia CAR-T

Barcelona, 18 y 19 de septiembre de 2019



Informe realizado por Leticia Alserawan, a la que se le concedió una beca de la SEI. Compilado por LAURA GRAU y revisado por RAFAEL SIRERA.

Los días 18 y 19 de septiembre de 2019 se impartió en el Hospital Clínic de Barcelona el curso "Aspectos prácticos en la aplicación de terapia CAR-T". El profesorado, compuesto por especialistas del Hospital Clínic y del Hospital Sant Joan de Deu, mostró su conocimiento y experiencia con la terapia CAR-T que se está llevando a cabo en sus respectivos centros.

El curso comenzó con la charla de **Julio Delgado** sobre la construcción de un programa clínico de células CAR-T, indicando los diferentes pasos a seguir: planteamiento de objetivos del programa, criterios que debe cumplir el

producto final, documentación necesaria en cumplimiento de la legislación vigente, etc. También señaló todos los servicios hospitalarios implicados y su papel esencial en el desarrollo de este proyecto, incluyendo, además de Hematología, Enfermería, Farmacia, Inmunología, la Unidad de Aféresis, la Unidad de Cuidados Intensivos o Medicina Interna, entre otros, poniendo de manifiesto la necesidad de un equipo multidisciplinar.

Posteriormente, **Jordi Esteve**, **Susana Rives**, **Tycho Baumann** y **Laura Rosiñol** expusieron los resultados obtenidos hasta el momento en la terapia CAR-T en pacientes adultos de leucemia linfocítica aguda, en pacientes pediátricos, linfoma difuso de células grandes B y mieloma múltiple, respectivamente.

Por su parte, **Valentín Maldonado** explicó el circuito que comienza con la propuesta de un paciente candidato para recibir terapia CAR-T, y que finaliza con su administración. Este proceso sigue una serie de pasos: acogida del paciente en la unidad CAR-T y valoración clínica, leucoaféresis, producción celular y terapia "puente", tratamiento linfodeplectivo e infusión celular. Previamente es necesaria una propuesta formal por parte del centro CAR-T y la aprobación formal tanto a nivel regional como nacional. Minimizar el tiempo es crítico y Maldonado destacó en particular la diferencia experimentada en el *timing* del proceso cuando se trata a un paciente en un centro que no es el suyo, y más si este está fuera de su comunidad autónoma de origen.

Desde el grupo de enfermería de terapia CAR-T, **Mercedes Montoro** habló del papel que desempeñan los enfermeros/as en las terapias CAR-T. No solo llevan a cabo un cuidado integral directo del paciente en las diferentes etapas del tratamiento, sino que también tienen un papel fundamental en la educación al paciente y a familiares o cuidadores, y garantizan la comunicación y la continuidad eficiente de la atención a los pacientes con terapia CAR-T.

Posteriormente, tomó de nuevo la palabra **Julio Delgado** para incidir en la importancia de la selección racional del paciente candidato, así como los criterios de inclusión y exclusión de la terapia, lo que ilustró con una serie de casos clínicos prácticos.

Una vez aprobada una solicitud, el primer paso que se lleva a cabo en el paciente es la leucoaféresis. **Miquel Lozano** detalló cómo se lleva a cabo la extracción de células mononucleadas de la sangre y las condiciones óptimas para conseguirlo.

Tras la extracción de células, y durante todo el proceso de producción del CAR-T, es fundamental, como señaló **Jordi Esteve**, el mantenimiento del paciente en espera y la elección del tratamiento "puente". Los aspectos, tanto clínicos como de enfermería, en la preparación del paciente para recibir terapia CAR-T fueron explicados por **Valentín Ortiz-Maldonado** y **Laia Guardia**, respectivamente.

En la actualidad, existen en el territorio nacional ocho centros autorizados para la administración de terapia CAR-T en pacientes adultos, a los que se suman otros tres centros para pacientes pediátricos. **Álvaro Urbano-Izpijua** destacó aspectos fundamentales respecto al coste de un tratamiento y el sistema de financiación y reembolsos de la terapia CAR-T.

Manel Juan fue el encargado de cerrar la primera jornada del curso con una explicación sobre la recepción, almacenamiento y entrega de productos CAR-T siguiendo los criterios de calidad exigidos. Como complemento, **Anna Serrahima** señaló otros aspectos de calidad relevantes en terapias celulares, y **Gonzalo Calvo** habló sobre el sistema de farmacovigilancia y la necesidad de la notificación de reacciones adversas.

La segunda jornada arrancó con el análisis de las toxicidades secundarias a la terapia CAR-T. **Marina Díaz-Beyá** y **Tycho Baumann** explicaron la valoración y gestión del síndrome de liberación de citocinas o "CRS" (del inglés, *Cytokine Release Syndrome*), producido como consecuencia de la activación de los linfocitos T (infundidos o endógenos) y otras células inmunitarias efectoras, causando fiebre como signo más temprano, seguida de hipotensión e hipoxia, y cuyo diagnóstico diferencial lo constituye la sepsis. Es importante la caracterización de este síndrome y su gravedad para poder tomar decisiones terapéuticas como la administración de tocilizumab, o el ingreso del paciente en la Unidad de Cuidados Intensivos si fuera necesario. La activación de las células inmunitarias efectoras también puede producir un proceso patológico en el sistema nervioso central más conocido como "ICANS" (*Immune Effector Cell-Associated Neurotoxicity Syndrome*). Normalmente, este suele estar precedido de un CRS, aunque no siempre.

Por su parte, **Pedro Castro** y **Iolanda Jordan** presentaron el soporte intensivo necesario en casos de toxicidad grave en adultos y en pacientes pediátricos, respectivamente.

En estos pacientes se produce una alteración inmunológica y esto se relaciona con una mayor probabilidad de desarrollar infecciones. **Carolina García-Vidal** nos habló de los agentes infecciosos más comunes, la antibiotioterapia utilizada, así como los principales retos a los que se enfrentan.

Otra aportación fundamental para la comprensión y el análisis del tratamiento CAR-T la realizó **Azucena González**, que mostró el seguimiento biodinámico de la terapia que realizan desde la Unidad de

Inmunoterapia. Se monitorizan poblaciones celulares, citocinas, y la presencia de anticuerpos anti-murinos, además de monitorizar las células CAR-T positivas en sangre periférica.

Su explicación no quedaría completa sin añadir una descripción del CAR-T académico por parte de **Manel Juan**; la metodología de producción y la normativa vigente por la que se regula la autorización de terapias avanzadas de fabricación no industrial. En la actualidad, en el Hospital Clínic están en marcha dos proyectos: el ARI1, con CD19 como diana, que está actualmente en fase II y en cuyo marco se han tratado un total de 11 pacientes; y, por otro lado, el ARI2, dirigido frente a la molécula BCMA, en los que está involucrada también la Clínica Universidad de Navarra. Este segundo proyecto está en fase I/II y se han tratado hasta el momento 5 pacientes con mieloma múltiple.

Por último, se impartieron también en este curso directrices relacionadas con el seguimiento de estos pacientes a largo plazo, incluyendo calendario de visitas, manejo de toxicidades, profilaxis y revacunaciones, evaluación de la respuesta a la terapia y posibles mecanismos de recaídas. Dos jornadas intensas y enriquecedoras acerca de una terapia novedosa y fundamental para muchos tumores hematológicos, que ha demostrado eficacia, por el momento, a largo plazo. Además, es una opción terapéutica que está en constante evolución, lo que anticipa un futuro muy prometedor.





Entendiendo los mecanismos que conducen al escape inmunológico y la patogenia del nuevo coronavirus SARS-CoV-2



RAFAEL SIRERA

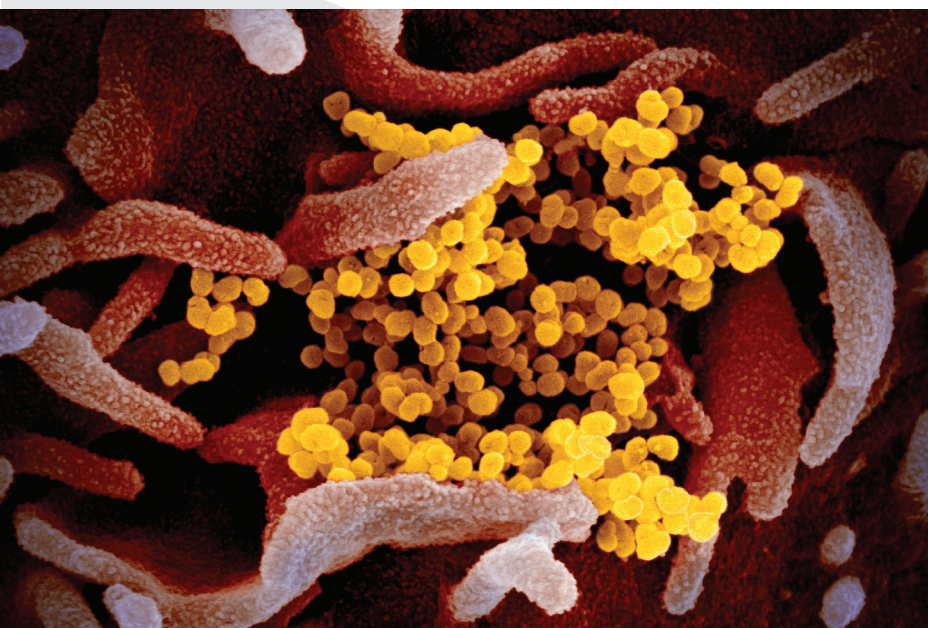
Catedrático Departamento de Biotecnología
Universitat Politècnica de València

La infección

Imaginemos que un virus es capaz de penetrar a través de las barreras físicas que forman nuestro recubrimiento epitelial o mucoso, por ejemplo, en el tracto respiratorio. Imaginemos que el virus es capaz de resistir las barreras químicas y biológicas creadas por nuestros microorganismos comensales, las células epiteliales y por las células inmunitarias que producen desagradables ambientes ácidos, grasos y salinos o que secretan enzimas tóxicos o péptidos catiónicos que podrían destruir sus biomoléculas y con ello su integridad.

Si el virus ha sido capaz de saltarse esta barrera de elementos defensivos constitutivos y preformados, ya lo tenemos en nuestro interior. Nos ha infectado. Ahora necesitamos que nuestras células sean capaces de percibirlo, que puedan iniciar la respuesta inmunitaria innata inducida y la inflamatoria, con el objetivo de contenerlo y erradicarlo en menos de 96 horas. Pero en este contexto hay que tener en cuenta un detalle muy importante: el virus, además de penetrar, ha de dañar discretamente nuestros tejidos. Ello no debería ser ningún obstáculo para él, pues seguramente tendrá tropismo por alguna célula

del epitelio, penetrará así en su interior, le secuestrará la maquinaria biosintética en su propio beneficio y generará nuevos viriones con el consiguiente estallido y necrosis de la célula infectada.



Fotomicrografía de barrido que muestra viriones de coronavirus saliendo de una célula infectada (National Institute of Allergy and Infectious Diseases-Rocky Mountain Laboratories, NIH).

La detección de la infección

Con estas muertes celulares no programadas se van a liberar de forma masiva moléculas endógenas celulares que, además, van a dañar o modificar el andamiaje de los tejidos. A estas moléculas o cambios los denominamos "patrones moleculares asociados al daño" (también conocidos como DAMP o alarminas), y son inmunogénicos pues las células de la inmunidad innata poseen receptores que van a ser capaces de percibirlos y reconocerlos.

Pero no debemos olvidar que, además del daño, tenemos al extraño, al virus que ha conseguido infectarnos. Pues bien, los microorganismos patogénicos también tienen otros patrones moleculares asociados (en términos inmunológicos, PAMP o MAMP) que serán reconocidos por los sensores celulares. Como los microorganismos pueden localizarse o esconderse en cualquier ubicación del individuo, sus células, y especialmente las del sistema inmunitario, disponen de un gran abanico de sensores de estos patrones y los denominamos “receptores que reconocen patrones” (PRR). Estos numerosos PRR pertenecen a distintas familias estructurales y así mismo cumplen funciones muy diferentes. Hay sensores que se localizan tanto en las membranas de la célula (por ejemplo, *toll-like receptors* o TLR, *scavenger receptors* o SR, y los receptores de manosa de los macrófagos o MMR) como en el citoplasma de la misma (los *NOD-like receptors* o NLR, y los *RIG-like receptors* o RLR), como en los humores o fluidos biológicos (la lectina que une manosa o MBL, y la proteína C-reactiva o CRP). Este último tipo de PRR humorales los producen también otras células, como los hepatocitos, que los liberan a la sangre para que se repartan por todo el organismo.

Además de la función como sensor, los PRR cumplen otras dos funciones muy distintas y, a la vez, muy importantes para la defensa del individuo. Por un lado, la fagocitosis de los microorganismos que sean reconocidos por los neutrófilos y los macrófagos; y, por otro lado, la activación del complemento, el principal ejecutor de la inmunidad innata humoral. Esta función tipo sensor va a disparar la respuesta inmunitaria innata local, la respuesta inflamatoria y la de reparación tisular. Se va a aumentar la permeabilidad de los vasos para que nuevos componentes del sistema inmunitario puedan acudir a este territorio que está siendo invadido por los virus y que la suma y la unión hagan la fuerza antimicrobiana. Asimismo, es muy destacable tener en cuenta que esta respuesta inflamatoria y la actividad de las células dendríticas y macrófagos presentando antígenos y estimulando a los linfocitos T, también va a llevar a la activación de la respuesta inmunitaria adaptativa. Esta última es la que, en última instancia, combatirá de la forma más específica, especializada y efectiva la infección del virus, este parásito intracelular, y además podremos beneficiarnos de su efecto memoria ante futuras exposiciones del mismo microbio.

La respuesta antiviral intrínseca

Volvamos otra vez a fijarnos en el agente invasor, el virus, el cual, debido a que es una partícula no viva y de absoluta simplicidad estructural, podría ser muy resistente y esquivo a todas estas formas de reconocimiento y medidas que la respuesta inmunitaria está generando contra el mismo. Pero nuestras células y nuestro sistema inmunitario han evolucionado a lo largo de millones de años de forma muy satisfactoria, conocedores de que existen los virus y que, para poder detectarlos y contrarrestarlos, son necesarias otras estrategias muy diferentes que las que generamos contra los otros tipos de microorganismos. Y nos estamos refiriendo a la inmunidad antiviral intrínseca, que restringe directamente la replicación viral y el ensamblaje, lo que hace que una célula no sea permisiva a la colonización viral. Esta inmunidad intrínseca es conferida por factores preexistentes y, en gran medida, por la presencia de factores inducidos por la propia infección del virus. Una de las formas más simples de impedir la actividad y replicación viral se observa en invertebrados y la denominamos “inmunidad basada en el RNA” al utilizar distintos tipos de RNA de interferencia que bloquearán la expresión de los genes virales e incluso inducirán su degradación. Este sistema es comparable a la regulación epigenética que realizan los microRNA usando las enzimas Dicer y RISC, o de una forma análoga al conocido sistema antiviral bacteriano CRISPR-Cas. Aumentando la complejidad evolutiva, los vertebrados hemos desarrollado otro mecanismo más complejo y eficiente, que es una inmunidad basada en proteínas y es la respuesta a los interferones (IFN, su nombre deriva de que interfiere en la capacidad infectiva de un virus). Como vamos a ver, la respuesta del interferón que desencadena alguno de los citados PRR al detectar un virus, no solo afecta a la célula que percibe este invasor (autocrina), sino que se extenderá de forma paracrina a las células de su vecindario para que todas puedan degradar la información genética del virus e impedir la expresión de sus genes.

La respuesta del interferón

Llegado este momento, es importante que veamos de forma algo más detallado en qué consiste la respuesta antiviral mediada por interferón. Los principales PRR que detectan la presencia de virus se basan en localizar ácidos nucleicos no “naturales” de la célula, como dsRNA y DNA con CpG no metilados; se encuentran en las membranas de las vesículas endocíticas (dentro de la célula) y son los TLR3, 7, 8 y 9, además de los RLR citosólicos RIG-I y MDA5. Mediante un mecanismo complejo de señalización y transducción, estos PRR consiguen que se fosforilen y dimericen componentes de una familia de factores de transcripción que se denominan IRF (*interferon regulatory factor*) y que puedan trasladarse al núcleo. Una vez en el núcleo, estos IRF interaccionan con genes que contienen en sus promotores secuencias nucleotídicas denominadas ISRE (*IFN-stimulated response elements*) y que conducen a la expresión de los interferones de tipo I (IFN- α e IFN- β) y otros genes antivirales importantes (que luego volveremos con ellos). Hay que hacer notar que este interferón que va a producir la célula, no interfiere directamente con el virus, sino que va a ser secretado, y las células que posean receptores para los interferones de tipo I (IFNAR) serán las que se beneficien de su producción y liberación. Afortunadamente, la expresión del receptor de IFN se transcribe en ese contexto de ISRE, por lo que la célula productora será una de las beneficiadas junto con otras células del microambiente. La señalización a través de los IFNAR lleva a un mecanismo similar donde intervienen otros factores de transcripción que actúan sobre las mismas secuencias ISRE y alimentan como un bucle con *feedback* positivo todo el proceso de señalización y protección local contra los virus.

Nos queda ver ahora cuáles de esas proteínas que se van a producir gracias a los interferones son las que directamente van en contra de los virus. En primer lugar, se aumenta la expresión del complejo principal de histocompatibilidad de tipo I y la presentación de proteínas celulares (y también virales, pues el virus está dentro de la célula y usa su maquinaria metabólica) a los linfocitos T. Este proceso fundamental para la vigilancia inmunológica permite que los linfocitos detecten la producción de proteínas extrañas al organismo (como las virales), y si se da el caso, que se genere la respuesta inmunitaria adaptativa. Todo ello acompañado en un contexto que maximiza la activación de los linfocitos citotóxicos (CTL) que, en última instancia, serán los encargados de destruir a las células infectadas por virus. Además de la activación de los CTL, la célula produce una serie de enzimas que degradan RNA virales como la 2',5' oligoadenilato sintetasa, PKR que impiden la acción de factores de transcripción necesarios para la expresión de proteínas virales, y proteasas que degradan las proteínas de la cápside viral que se hayan sintetizado, impidiendo el ensamblaje de nuevos viriones. De esta forma tan eficiente, la inmunidad innata logra detectar los virus y no solo luchar contra ellos, sino que inicia la activación de la respuesta inmunitaria adaptativa.

Pero los virus no iban a ser menos que las células de los vertebrados, y su proceso evolutivo a algunos también les ha permitido adquirir mecanismos de resistencia o de evasión de la respuesta antiviral y, por ende, de la respuesta inmunitaria, contribuyendo a la inmunopatogenia de algunas enfermedades virales. Estas estrategias son muy variadas y están asociadas a la complejidad genómica del virus. Cuantos más genes sean capaces de empaquetar en sus cápsides, seguramente más genes tendrán para bloquear la señalización de PRR y de IFNAR. Para poder entenderlo mejor, lo más conveniente será ver un ejemplo y, en estos momentos, tal vez el ejemplo más interesante es el coronavirus. Vayamos, pues, a ver los mecanismos inmunopatogénicos de los coronavirus.

Un ejemplo concreto, el coronavirus y la pandemia COVID-19

En diciembre del año 2019 la humanidad ha sufrido por tercera vez en las últimas dos décadas una nueva zoonosis causada por un coronavirus (SARS-CoV-2, *Severe Acute Respiratory Syndrome coronavirus 2*), provocando una epidemia que afecta a las vías respiratorias y que, en algunos

casos, es una enfermedad muy grave, la denominada COVID-19. El avance de la biología molecular y el riesgo a que se convirtiera en una epidemia ha intensificado los esfuerzos de los centros de investigación, de las autoridades sanitarias de muchos países y de la OMS. Gracias a ello, en tan poco tiempo tenemos muchos datos epidemiológicos, conocemos la información genética del virus y se han desarrollado tests diagnósticos muy sensibles y cuantitativos. Se ha podido establecer el tropismo viral sobre células epiteliales alveolares gracias a la interacción con la exopeptidasa, enzima convertidora de angiotensina (hACE2). Esta enzima transforma, preferentemente en el pulmón, al precursor de la angiotensina en una molécula activa y que se encarga de regular la presión arterial. Pero aún quedan muchas lagunas por resolver y que nos pueden ayudar a contener la epidemia, como cuál ha sido el vector, el desarrollo de algún antiviral o de una vacuna. A pesar de todo, el esfuerzo tecnológico y humano ha sido tremendo y sin parangón.

El virus y sus genes estructurales

Los coronavirus son virus de RNA monocatenario con capacidad codificante (+ssRNA) y, en este caso concreto, el tamaño del genoma del SARS-CoV-2 es de 30 kilobases (kb). Teniendo en cuenta que 10 kb es el tamaño medio de los virus de RNA, este detalle sitúa a los coronavirus como los virus de RNA con genoma más grande. Y tener un genoma mayor conlleva mejoras en su supervivencia y mejoras en su adaptación al hospedador, lo que implica en muchos casos capacidad de escape inmunológico o cierta inmunopatogenia. Esta complejidad, en primer lugar, se asocia con una característica muy relevante a la hora de la multiplicación y la evolución viral y es que el complejo de replicación transcripción tiene actividad 3'-5' exorribonucleasa, lo que le confiere mayor fidelidad de copia. Luego, los coronavirus mutan, seguro que mucho, pero menos de lo que cabría esperar teniendo en cuenta que es un virus de RNA. Las proteínas que están codificadas en su genoma se dividen en dos grupos: proteínas no estructurales y proteínas estructurales. Empecemos por estas

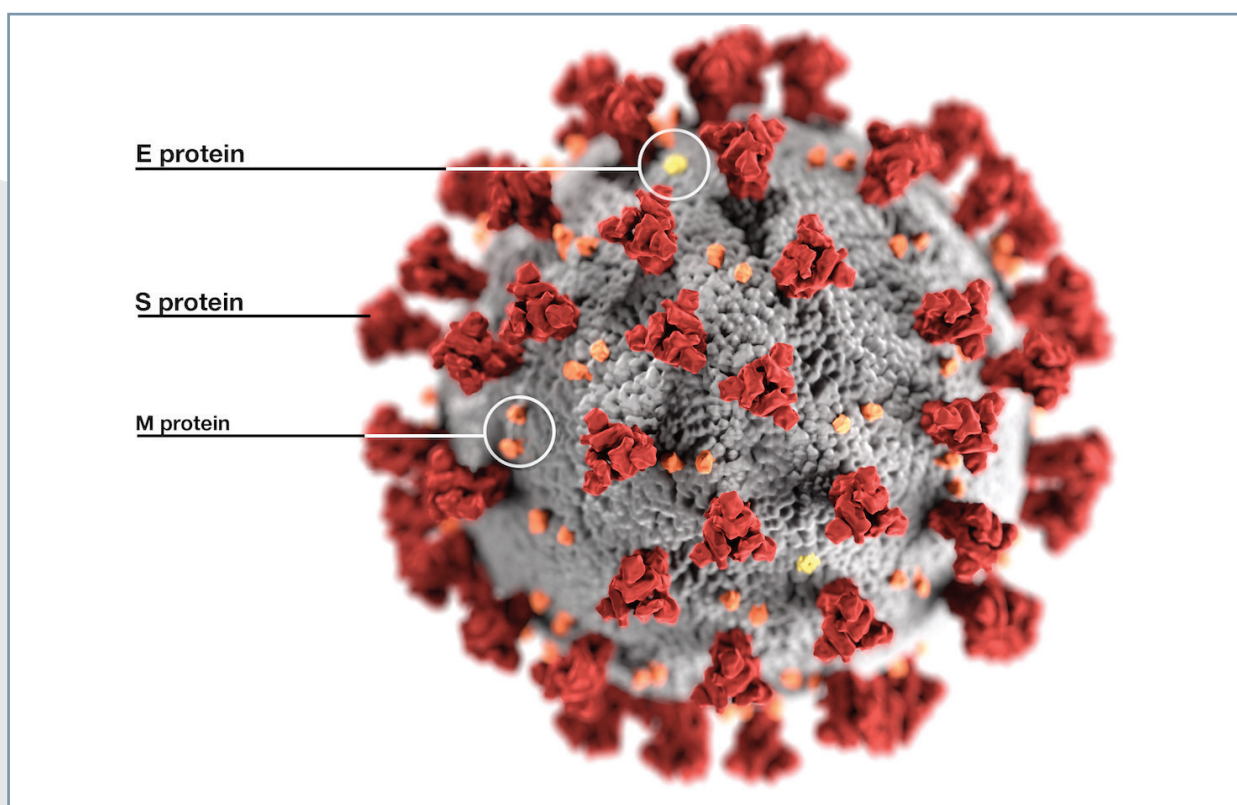


Ilustración de la morfología ultraestructural de los coronavirus. La proteína S de superficie o espícula da la apariencia de una corona rodeando al virión, cuando se observa electrónicamente al microscopio. Se indican también las proteína E (envuelta) y M (membrana). *Imagen:* CDC/ Alissa Eckert, MS; Dan Higgins, MAMS (2020).

últimas, y dentro de las estructurales, en sentido 5'-3' tenemos:

- La proteína S (*Spike*, pincho) que, formando homotrímeros, crea esas estructuras que asoman sobre la nucleocápside y le permiten anclarse a su receptor (hACE2).
- La proteína E (envuelta) encargada del ensamblaje viral y la patogenia del virus.
- La proteína M (membrana) tiene tres dominios transmembrana y al unirse a la nucleocápside le confiere la estructura esférica.
- La proteína N (nucleocápside) tiene dos dominios: uno que interacciona con el RNA viral conduciendo a su correcto encapsulamiento en los viriones; y otro dominio multifunción que actúa, por un lado como antagonista del IFN, y por otro lado como represor de los RNA de interferencia, lo cual es muy importante para evitar la acción inmunitaria antiviral y es beneficioso para su replicación.
- Además, los β -coronavirus también disponen de la hemaglutinina-acetilesterasa (HE), una glicoproteína que se une a restos de azúcar en las membranas celulares e induce la fusión y penetración viral en la célula. Curiosamente, parece ser que el gen para HE fue introducido en un genoma ancestral de coronavirus por recombinación con el virus de la influenza C.

Los genes no estructurales y la inmunopatogenia viral

El análisis genético y molecular del SARS-CoV-2 nos permite afirmar que no es ni un mutante de cualquier coronavirus anterior ni un recombinante de coronavirus conocidos. Es un coronavirus desconocido, probablemente de un hospedador no humano que, de alguna manera, adquirió la capacidad de infectar a humanos y provocar la presente zoonosis. Sobre los genes no estructurales empezaremos abordando el papel que juegan las otras proteínas virales:

- La nsp13 es una helicasa, una enzima vital para el desempaquetado de los genes y, por ende, para la replicación y transcripción viral.
- Las nsp7 a 10 son regiones críticas como reguladoras de la nsp12, que es la RNA polimerasa multidominio y que, junto con la actividad de reparación del RNA (MMR) de la nsp14, le confiere estas altas tasas de fidelidad de copia.
- Por otro lado, como la síntesis del mRNA del coronavirus se realiza en el citosol en lugar de en el núcleo, los virus de +RNA de eucariotas no pueden confiar en que las proteínas nucleares de la célula se encarguen de añadir la 7-metilguanosina (m7G) al primer nucleótido del RNA para protegerlo de las exorribonucleasas celulares (proceso que se denomina *capping*) y conducir a su traducción en proteínas. En este sentido, las nsp10-13-14-16 virales participan en el *capping* del RNA viral.

Veamos entonces las claves de la inmunopatogenia de los coronavirus, que pivotan sobre el bloque de la actividad antiviral que se pone de manifiesto gracias a la acción del resto de proteínas no estructurales:

- La nsp1 de los SARS-CoV es una proteína de 20 kDa que se localiza en el citoplasma de las células infectadas y que genera una variedad de funciones únicas en los β -coronavirus. En primer lugar, es capaz de bloquear y degradar el mRNA del IFN- β y otros mensajeros endógenos. En segundo lugar, al bloquear la fosforilación de STAT1 e I- κ B y la dimerización de IRF3, inhibe las vías de transducción de señales que involucran a IRF, STAT y NF- κ B. Ello afecta también a la progresión del ciclo celular sin inducir apoptosis, favoreciendo la supervivencia viral.
- La nsp3, codificada en el gran ORF1 y que genera una proteína de 200 kDa con varios dominios funcionales diferentes. Estos incluyen un dominio de unión de poli (ADP-ribosa), de

proteasa (*papain-like protease*, PLP), otro deubiquitinasa y un último de ISGylasa. La función PLP de nsp3 es la que antagoniza las respuestas IFN de tipo I, impidiendo la fosforilación, dimerización e importe al núcleo de IRF3. De forma análoga actúa sobre la vía de represión del NF- κ B. Además, la función ISGylasa contrarresta la acción del gen 15 estimulado por interferón (ISG15), que es la ISGilación. Veamos en qué consiste este proceso. La modificación postraducciona de las proteínas es una estrategia importante para la regulación del proteoma celular. La ubiquitina y otros modificadores similares a la ubiquitina, como ISG15, a través de su conjugación covalente a proteínas median la regulación de los niveles de esas proteínas, las vías de señalización, el tráfico vesicular y muchos otros procesos celulares. La ISG15 se codifica y se expresa como una proteína precursora de 17 kDa que se procesa proteolíticamente en su extremo C-ter para exponer una secuencia de aminoácidos, idéntica a la secuencia C-ter de la ubiquitina, y sus adiciones covalentes a las proteínas son bastante similares. Por este mecanismo se regula a la baja la vida media de las proteínas virales, disminuyendo su capacidad de ensamblaje y la viabilidad de los mismos. De forma contraria, este proceso afecta aumentando la vida media de muchos genes regulados al alza como respuesta de IRF. Por este motivo, esta actividad ISGylasa parece una estrategia acertada de propagación viral.

- Las otras nsp4 a nsp6 bloquean directamente la actividad antiviral que la célula debería poner en marcha inhibiendo la señalización del IFN. Algunas formas descritas por SARS-CoV de antagonizar a los IFN de tipo I lo hacen mediante la inactivación de la traducción del hospedador; la degradación de sus mRNA; interactuar negativamente con STING; antagonizar la señalización del IFN inducida por MAVS/RIG-I. Así mismo, también lo consiguen bloqueando la expresión de citocinas proinflamatorias y la generación de las vesículas que son necesarias para la formación de autofagosomas y el incremento de la presentación de péptidos virales.
- Por último, la nsp16 es una 2'-O-metiltransferasa (2'-O-MTasa) que bloquea muy selectivamente la señalización a través de MDA5, un tipo de RIG-*like* receptor.

La afectación de las células presentadoras de antígeno

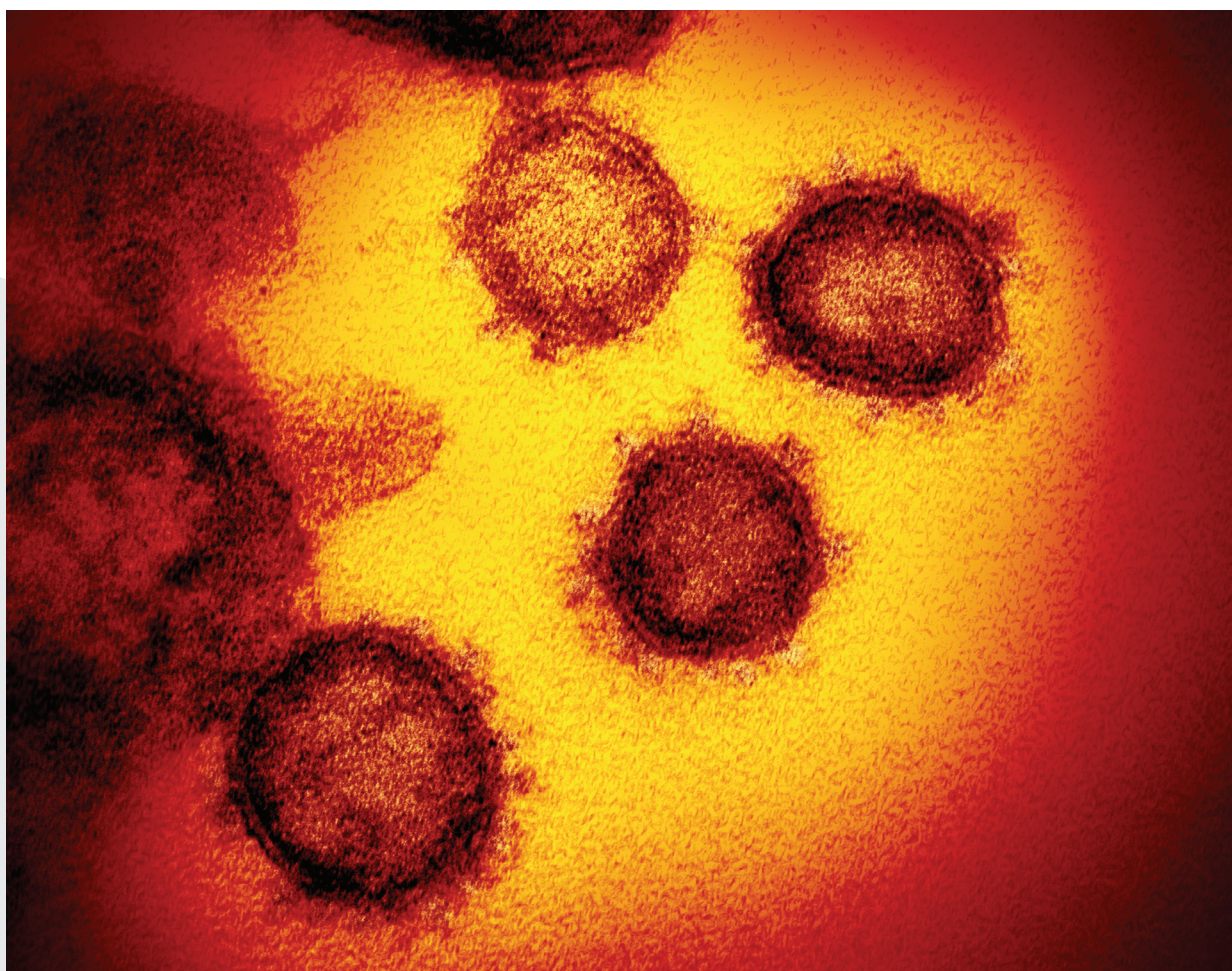
Pero aquí no acaba la cosa. Tanto los factores virales antes descritos como los del huésped afectan a la virulencia de las enfermedades por coronavirus en animales. Un ejemplo de ello es que tanto la COVID-19 como el SARS se caracterizan por una respuesta inflamatoria exacerbada y, de hecho, la carga viral no está correlacionada con el empeoramiento de síntomas. En este contexto, es vital conocer el mecanismo que desencadena que la respuesta inflamatoria del hospedador, con sobreexpresiones de citocinas, se convierta en una causa principal de daño pulmonar y posterior mortalidad en los casos severos de COVID-19. Las dianas principales de la infección por los SARS-CoV son las células epiteliales ciliadas de la vía aérea y los neumocitos alveolares de tipo II. Pero también se ha demostrado que los SARS-CoV usan DC-SIGN y L-SIGN como correceptores para la entrada. Es de señalar que cada uno de estos receptores se sobreexpresan en algunos tipos de células presentadoras de antígenos inmaduras (APC), sobre todo células dendríticas (DC) y podrían aumentar el tropismo viral y, por consiguiente, contribuir aún más a la inmunopatogenia de la enfermedad. La alta infectividad viral en APC inmaduras indica que hay muchos PRR en ellas y que el virus puede superar la respuesta antiviral inicial. Pero también nos revela que la maduración de las APC no sólo conlleva una bajada muy importante del número de PRR, sino la aparición de otros mecanismos de restricción que evitan la replicación del virus. Estas y otras APC actúan como primera defensa contra la infección viral al estimular la vigilancia inmunológica, la defensa antiviral intrínseca y el puente entre la inmunidad innata y adaptativa, participando en el reclutamiento de los linfocitos de memoria y de células efectoras al sitio de infección. Además, estas APC profesionales también son una fuente importante de interferones tipo I. Así, el efecto citopático del coronavirus es un mecanismo indirecto de sobrestimulación de APC y se asocia también con la inducción

de inflamación y la secreción masiva de citocinas en los pulmones como IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α y CXCL-10, que pueden provocar daños en los tejidos y favorecer la diseminación sistémica del virus.

Por otro lado, el mecanismo de escape inmune a través de la afectación de APC daría como resultado un aclaramiento viral ineficiente, lo que puede explicar la alta patogenicidad y las manifestaciones clínicas vistas en COVID-19, MERS y SARS. Luego, que las APC funcionen adecuadamente es crítico para mitigar la infección y limitar el desarrollo de la enfermedad. En este sentido, existen tres posibles candidatos terapéuticos sobre la mesa, baricitinib, fedratinib y ruxolitinib, que son inhibidores potentes y selectivos de JAK aprobados para indicaciones como artritis reumatoide y mielofibrosis. Los tres son potentes antiinflamatorios que inhiben la señalización JAK-STAT de los receptores de citocinas. Desde el punto de vista técnico y de desarrollo de fármacos, esta permisividad de APC sobre los coronavirus nos va a ayudar en el *screening in vitro* de potenciales agentes terapéuticos.

Consideraciones finales

En algunos individuos, la presencia del coronavirus en las vías respiratorias va a ser la puerta de entrada a otros microorganismos oportunistas que podrían ocasionar estas neumonías severas. Esta puerta se abre por el efecto citopático directo del virus sobre las células epiteliales del tracto respiratorio y por el daño tisular local que la respuesta inflamatoria va a ocasionar. Si a esto le añadimos un sistema inmunitario ineficiente debido a los mecanismos de inmunoevasión del coronavirus, tenemos todas las papeletas para convertir a la COVID-19 en una enfermedad especialmente contagiosa, perdurable en el individuo y en algunos casos grave. Los mecanismos de escape viral e inmunopatogenia no son únicos de los coronavirus y han sido descritas muchas formas diferentes de interferir en la



Fotomicrografía de transmisión de coronavirus (National Institute of Allergy and Infectious Diseases-Rocky Mountain Laboratories, NIH).

señalización de citocinas y de sus mecanismos de transducción. Además, otros virus de las familias de adenovirus, herpes, papiloma y poxvirus, entre otros, interfieren en la actividad del proteasoma y el proceso celular dedicado a la presentación antigénica o de aparición del MHC en la membrana. Otros codifican citocinas inmunosupresoras o cambios de fenotipos de los linfocitos *helper* (como el *shift* Th1 a Th2, poco eficiente para parásitos intracelulares). Generalmente son grandes virus de DNA y aquí los coronavirus representan una buena excepción a esta regla.

Hasta el momento, el SARS-CoV-2 se está comportando como un enemigo de la especie humana, con unas tasas de letalidad difícilmente asumibles y que está poniendo en jaque el movimiento de personas, la globalización y la economía mundial. Sin ninguna duda, sus efectos sobre países en vías de desarrollo serán todavía peores. Por ello, como enemigo que es de todos nosotros, requiere un esfuerzo global para combatirlo. Destinemos los recursos necesarios para comprender mejor la patogenia, desarrollar antivirales y medidas de soporte más efectivas, y luchemos por conseguir la vacuna preventiva. Tomemos las medidas oportunas para contener la diseminación de la enfermedad y protejamos a los más sensibles o susceptibles a sucumbir ante el virus, pero con cautela y sin alarmar innecesariamente a la población. Pero eso sí, no deberíamos permitir que la COVID-19 se convierta en la pandemia del siglo XXI como sucedió con la gripe de 1918.



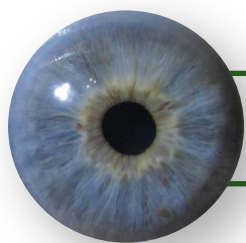
Para más información, puede seguirse el blog

Inmunoensayos. Reflexiones y revisiones sobre la respuesta inmunitaria.

REFERENCIAS

- [1] Cong, Y. *et al.* (2018). "MERS-CoV pathogenesis and antiviral efficacy of licensed drugs in human monocyte-derived antigen-presenting cells". *PLoS ONE* **13**: 1-17.
- [2] Morales, D. J. y Lenschow, D. J. (2013). "The antiviral activities of ISG15". *Journal of Molecular Biology* **425**: 4995-5008.
- [3] Cui, J., Li, F. y Shi, Z. L. (2019). "Origin and evolution of pathogenic coronaviruses". *Nature Reviews Microbiology* **17**: 181-192.
- [4] Chen, Y., Liu, Q. y Guo, D. (2020). "Emerging coronaviruses: Genome structure, replication, and pathogenesis". *Journal of Medical Virology* **92**: 418-423.
- [5] Stebbing, J. *et al.* (2020). "COVID-19: combining antiviral and anti-inflammatory treatments". *The Lancet Infectious Diseases*. On line comment, February, 2020.
- [6] Poulter, N. (2020). "Lower Blood Pressure in South Asia? Trial Evidence". *New England Journal of Medicine* **382**: 758-760.
- [7] Zhu, N. *et al.* (2020). "A novel coronavirus from patients with pneumonia in China, 2019". *New England Journal of Medicine* **382**: 727-733.
- [8] Totura, A. L. y Baric, R. S. (2012). "SARS coronavirus pathogenesis: Host innate immune responses and viral antagonism of interferon". *Current Opinion in Virology* **2**: 264-275.
- [9] Li, F. (2013). "Receptor recognition and cross-species infections of SARS coronavirus". *Antiviral Research* **100**: 246-254.
- [10] Frieman, M. y Baric, R. (2008). "Mechanisms of severe acute respiratory syndrome pathogenesis and innate immunomodulation". *Microbiology and Molecular Biology Reviews* **72**: 672-685.





Visión del autor

Coordinadores de sección: PEDRO RODA y DAVID SANCHO

Nature 569: 428-432.
1 mayo 2019

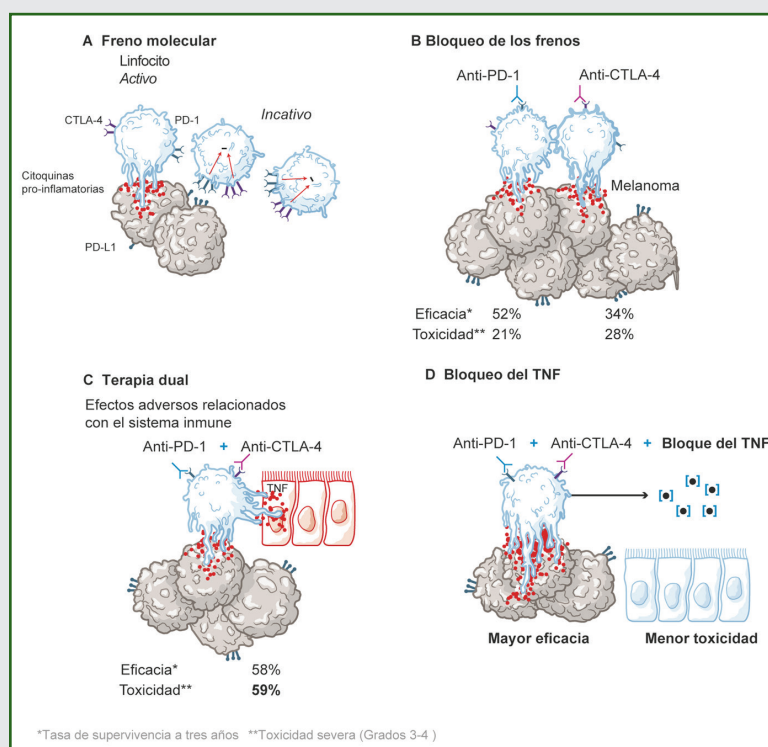
Prophylactic TNF blockade uncouples efficacy and toxicity in dual CTLA-4 and PD-1 immunotherapy

Elisabeth Pérez-Ruiz, Luna Minute, Itziar Otano, Maite Álvarez, María Carmen Ochoa, Virginia Belsue, Carlos de Andrea, María Esperanza Rodríguez-Ruiz, José Luis Pérez-Gracia, Iván Márquez-Rodas, Casilda Llácer, Martina Álvarez, Vanesa de Luque, Carmen Molina, Álvaro Teijeira, Pedro Berraondo & Ignacio Melero.

Actualmente, la combinación de anticuerpos bloqueantes de los puntos de control PD-1 y CTLA-4 (nivolumab e ipilimumab) es efectiva para el tratamiento del melanoma, carcinoma renal y cáncer de pulmón no microcítico. Sin embargo, la respuesta antitumoral viene acompañada de frecuentes y graves efectos adversos relacionados con el sistema inmunitario que requieren de una reducción o suspensión del tratamiento en los pacientes.

Con el objetivo de representar un escenario semejante al observado en los pacientes tratados con inmunoterapia que sufren de efectos adversos, establecimos un modelo murino tumoral con colitis autoinmune. Demostramos que el tratamiento profiláctico del TNF con inhibidores disponibles en la clínica (etanercept), en combinación con la administración de anticuerpos anti-CTLA-4 y anti-PD-1, mejoraba la colitis y, además, aumentaba la eficacia antitumoral. Estos datos pueden ser explicados ya que observamos cómo el TNF y sus mediadores están enriquecidos en muestras de intestino de pacientes que sufrieron colitis tras el tratamiento dual con ipilimumab y nivolumab, en comparación con muestras de donantes sanos.

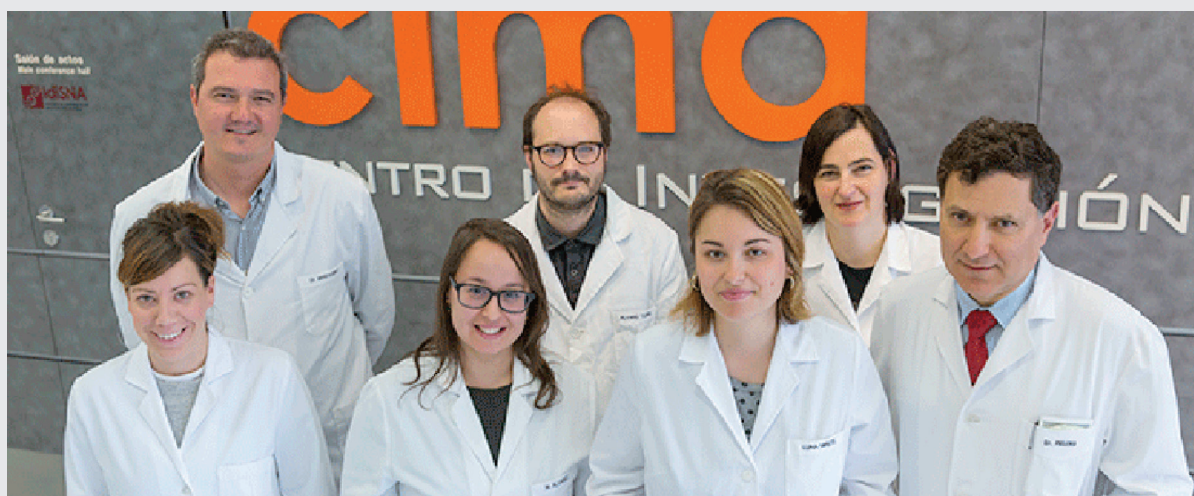
En otro modelo murino de autoinmunidad severa, en el que ratones inmunodeficientes fueron transferidos con células mononucleares de sangre periférica



©2019 CIMA-Universidad de Navarra. Source: Nature. Infographic: Fundamentum.

humana, observamos una exacerbación de la enfermedad de “injerto contra huésped” tras el tratamiento combinado con ipilimumab y nivolumab. Asimismo, el bloqueo del TNF humano (etanercept) mejoró la colitis y la hepatitis en este modelo y, además, observamos un retraso en el crecimiento de los tumores xenoinjertados en comparación con los ratones control.

Nuestros resultados proporcionan estrategias clínicamente viables para evaluar protocolos para el desarrollo de un ensayo clínico para estudiar el bloqueo profiláctico del TNF en el tratamiento con nivolumab e ipilimumab en humanos.



Por ITZIAR OTANO. Inmunología e Inmunoterapia. Centro de Investigación Médica Aplicada (CIMA), Universidad de Navarra. Pamplona.



Primer programa europeo de cribado neonatal para la inmunodeficiencia combinada grave: Experiencia de dos años en Cataluña



ANDREA MARTÍN-NALDA¹, ANA ARGUDO-RAMÍREZ² y PERE SOLER-PALACÍN¹

¹ Unidad de Patología infecciosa e Inmunodeficiencias de Pediatría. Hospital Universitari Vall d'Hebron-Centro Jeffrey Modell para el diagnóstico e investigación en inmunodeficiencias primarias. Universitat Autònoma de Barcelona

² Laboratorio de Cribado Neonatal. Sección de Errores Congénitos del Metabolismo. Servicio de Bioquímica y Genética Molecular. Centro de Diagnóstico Biomédico Hospital Clínic, Barcelona.

El cribado neonatal de la inmunodeficiencia combinada grave (IDCG) se implementó inicialmente en Wisconsin en 2008. Actualmente ya se realiza en todos los estados de Estados Unidos de América (EE. UU.), así como en Taiwán, Israel, Nueva Zelanda, Noruega, y diferentes provincias de Canadá, Suiza, Alemania, Irlanda, Suecia, Italia y Australia^[1]. El beneficio coste-efectivo de incluir la IDCG en los programas de cribado se ha demostrado tanto en EE. UU.^[2] como en Europa^[3]. En España, el cribado neonatal ya se ha implantado en Cataluña, pero actualmente se encuentra en evaluación a nivel nacional.

La IDCG es la forma más grave de inmunodeficiencia primaria (afecta a los linfocitos T y B) y se caracteriza en la mayoría de las ocasiones por una linfopenia grave de linfocitos T. Su incidencia en nuestra población es de alrededor de 1 caso por cada 60 000 recién nacidos, con importantes variaciones geográficas. Estos pacientes requieren una intervención clínica inmediata para prevenir infecciones graves y daño orgánico, y poder instaurar precozmente el tratamiento curativo, mejorando así su supervivencia. El tratamiento consiste en el trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH)^[4] o, en casos seleccionados, en el tratamiento enzimático sustitutivo o la terapia génica^[1].

El cribado neonatal de la IDCG se realiza principalmente me-

dianste la cuantificación de los círculos de escisión del gen del receptor del linfocito T (del inglés, *T-cell Receptor Excision Circles* (TRECs). Los TRECs son moléculas de ADN circulares estables formadas por el reordenamiento del gen del receptor del linfocito T durante su diferenciación en el timo, siendo un marcador de linfocitos T recientemente formados (esta población celular está extremadamente disminuida en los recién nacidos con una IDCG). El número de copias de TRECs se determina usando métodos cuantitativos basados en la amplificación de ácidos nucleicos (PCR)^[5]. La determinación de KRECs (del inglés, *κ-deleting Recombination Excision Circles*) en el cribado neonatal

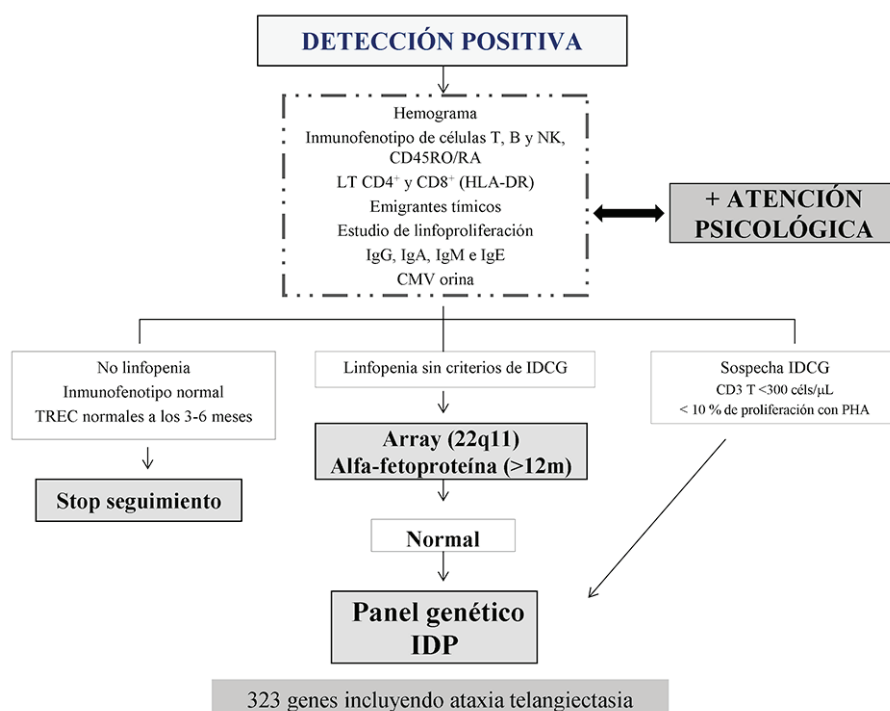


Figura 1. Protocolo de estudio y seguimiento de los casos positivos (Figura elaborada por los autores).

podría permitir detectar algunas otras entidades con defectos del linfocito B, aunque en la actualidad no se incluye en la mayoría de programas de cribado universal de la IDCG^[1].

La cuantificación de TRECs a través del cribado neonatal también permite identificar otras formas clínicamente relevantes de linfopenia T, como el síndrome de microdelección 22q11 (DiGeorge)^[6], el síndrome de Down o el síndrome CHARGE, entre otros.

En Cataluña, el programa de cribado neonatal comenzó con la detección de la fenilcetonuria en 1969 y el hipotiroidismo congénito en 1982. Hoy en día, aproximadamente 65 000 recién nacidos al año son cribados para la detección de 24 enfermedades (fenilcetonuria, hipotiroidismo congénito, fibrosis quística, enfermedad de células falciformes, aminoacidopatías, acidurias orgánicas y defectos de la beta oxidación mitocondrial), siendo la última en incluirse la IDCG, en enero de 2017.

Durante los dos primeros años de nuestra experiencia con el cribado neonatal de la IDCG^[7], se han analizado las 130 903 muestras de sangre impregnada en papel recibidas en el programa de cribado neonatal de Cataluña –Centro de Diagnóstico Biomédico (CDB) del Hospital Clínic de Barcelona–, empleando técnicas de biología molecular (Enlite Neonatal TREC kit, PerkinElmer).

De las casi 131 000 muestras, se obtuvieron 30 detecciones positivas (TRECs ≤ 20 copias/ μ L), las cuales fueron notificadas a la Unidad Clínica de referencia diagnóstica (UCRD) –Unidad de Patología infecciosa e inmunodeficiencias de Pediatría del Hospital Vall d'Hebron (Barcelona)– para iniciar la evaluación clínica e inmunológica. Según los resultados obtenidos en esta primera visita, se realizó un seguimiento y una serie de pruebas según protocolo [Figura 1] para llegar a los diferentes diagnósticos [Figura 2]. Se consideró que nueve pacientes tuvieron resultados falsos positivos (TRECs inicialmente bajos y recuento normal de linfocitos, con normalización de TREC entre los tres y seis meses de vida), cuatro pacientes tuvieron linfopenia transitoria (TRECs y linfocitos inicialmente bajos con recuperación en los siguientes meses), y

tres pacientes están actualmente en estudio. La incidencia de linfopenia T clínicamente significativa (no IDCG) fue de 1 caso por cada 10 069 recién nacidos (43 % de las detecciones positivas).

La incidencia de IDCG fue de 1 en 130 903 recién nacidos. El paciente fue un varón caucásico de 35 semanas de gestación con 0/0 copias TRECs/ μ L en el cribado neonatal. El recuento de linfocitos fue de $0,4 \times 10^9/L$ con un inmunofenotipo T-B-NK⁺ y una respuesta proliferativa a mitógenos ausente. Se realizó la secuenciación completa del exoma, pero no se encontraron mutaciones causales. El paciente se sometió a un trasplante de progenitores hematopoyéticos (TPH) a los dos meses de vida (utilizando un acondicionamiento de intensidad reducida) con una buena evolución clínica y una reconstitución inmunológica completa. El diagnóstico del paciente con IDCG T-B-NK⁺ permitió la derivación oportuna y precoz a un centro de tratamiento especializado para trasplante antes de cualquier manifestación clínica que hubiese podido influir en la supervivencia del paciente y en la evolución del TPH.

La incidencia de IDCG encontrada en nuestro estudio (1 en 130 903) es más baja que las tasas descritas en otras áreas. Sin embargo, anticipamos que se establecerá una incidencia más sólida cuando la población analizada llegue a 200 000 recién nacidos. Vale la pena mencionar que la detección temprana de pacientes con síndrome de delección 22q11.2 permitió una interven-

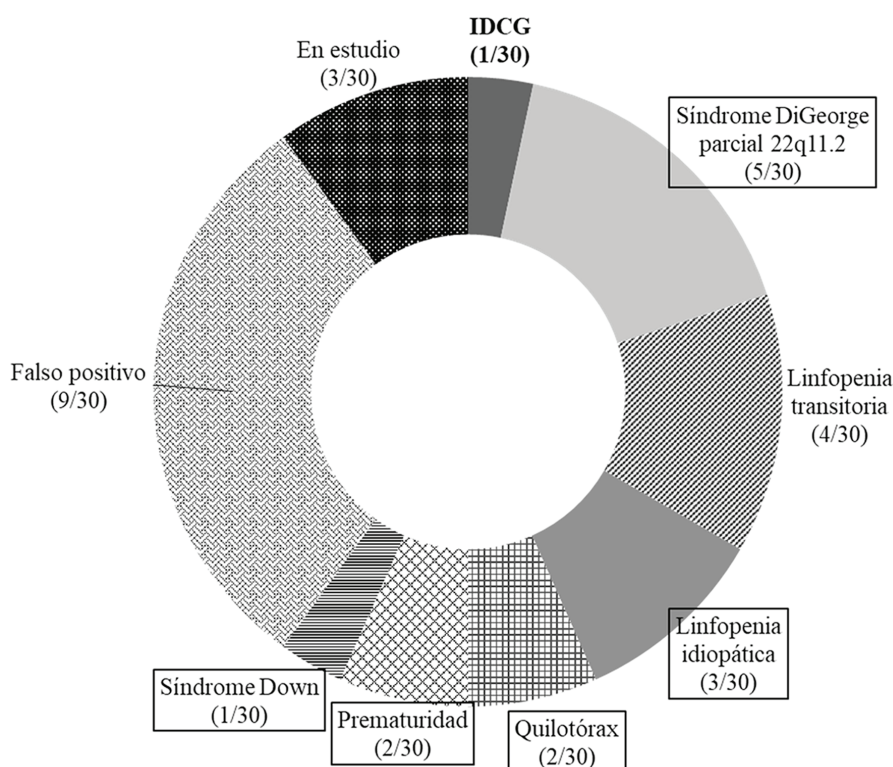


Figura 2. Diagnósticos de las 30 detecciones positivas (Figura elaborada por los autores).

ción rápida para anticipar complicaciones, según lo informado por nuestro grupo^[6].

Cabe destacar que uno de los puntos fuertes de nuestro enfoque en el cribado de esta enfermedad es el apoyo psicológico ofrecido a las familias, ya que un resultado positivo en cualquier programa de cribado es motivo de preocupación para los padres. El apoyo psicológico se intensificó en los momentos más complicados, como al ingreso en el hospital, y los padres fueron acompañados en todas las fases relacionadas con el trasplante.

La principal limitación de este estudio es el número relativamente pequeño de recién nacidos examinados, aunque la similitud entre nuestros resultados y los descritos en cohortes más grandes respalda su validez. Además, los datos retrospectivos muestran una incidencia de IDCG en nuestra región similar a la de otros países de Europa occidental y EE. UU.

Como conclusiones, decir que la cuantificación de TRECs en el cribado neonatal para la detección de IDCG se ha implementado satisfactoriamente en el programa de Cataluña^[7]. Después de una experiencia de dos años y más de 130 000 recién nacidos examinados, se ha identificado un paciente con IDCG y otros 13 pacientes con otras causas de linfopenia. Además, hemos consolidado nuestra estrategia de detección, así como el protocolo de caracterización, diagnóstico y seguimiento de casos positivos. Las tasas de repetición, solicitud de segundas muestras y de detección positivas han sido similares a los datos publicados. Nuestros resultados proporcionan más evidencia para apoyar la inclusión de la IDCG en los programas de cribado en el resto de las Comunidades Autónomas, así como en otras regiones y países. Se necesita un seguimiento más prolongado para acabar de definir la incidencia exacta de IDCG en Cataluña.

BIBLIOGRAFÍA

¹ van der Burg, M. et al. (2019). "Universal newborn screening for Severe Combined Immunodeficiency (SCID)". *Front. Pediatr.* **18**: 373.

² Modell, V, Knaus, M. y Modell, F. (2014). "An analysis and decision tool to measure cost benefit of newborn screening for Severe Combined Immunodeficiency (SCID) and related T-cell lymphopenia". *Immunol. Res.* **60**: 145-152.

³ Van der Ploeg, C. P. B. et al. (2019). "Cost-effectiveness of newborn screening for severe combined immunodeficiency". *Eur. J. Pediatr.* **178**: 721-729.

⁴ Buckley, R. et al. (1999). "Hematopoietic stem-cell transplantation for the treatment of severe combined immunodeficiency". *N. Engl. J. Med.* **340**: 508-516.

⁵ Chan, K y Puck, J. M. (2005). "Development of a population-based screening for severe combined immunodeficiency". *J. Allergy Clin. Immunol.* **115**: 391-398.

⁶ Martín-Nalda, A. et al. (2019). "Identification of 22q11.2 deletion syndrome via newborn screening for severe combined immunodeficiency. Two years' experience in Catalonia (Spain)". *Mol. Genet. Genomic Med.* **30**: e1016.

⁷ Argudo-Ramírez, A. et al. (2019). "First universal newborn screening program for severe combined immunodeficiency in Europe. Two-years' experience in Catalonia (Spain)". *Front Immunol.* **10**: 2406.

¿Existe el síndrome antifosfolípídico seronegativo?

El papel de otros anticuerpos extracriterio

MARÍA JOSÉ CUADRADO¹ y ANTONIO SERRANO²

¹ Servicio de Reumatología
Clínica Universitaria de Navarra en Madrid

² Servicio de Inmunología
Hospital 12 de Octubre. Madrid

El síndrome antifosfolípídico (APS) es un trastorno autoinmune multisistémico descrito por Graham Hughes en 1983 que se caracteriza por la aparición de eventos trombóticos o morbilidad gestacional en pacientes que no presentan ninguna patología que justifique este cuadro clínico. Como en la

mayoría de las enfermedades, no existen criterios diagnósticos sino criterios de clasificación. Para clasificar a un paciente como APS es necesaria la presencia de un criterio clínico (trombosis vascular o morbilidad gestacional) y un criterio de laboratorio que consiste en la presencia de, al menos, un anticuerpo antifosfoli-

pídico (aPL). Los aPL considerados en los criterios de clasificación son: el anticoagulante lúpico (AL) y los anticuerpos anticardiolipina (aCL) y anti-beta-2-glicoproteína-I (B2GP1) de isotipos IgG o IgM.

Los pacientes con APS también presentan una serie de síntomas adicionales que, pese a ser comunes, no están recogidos en los criterios de clasificación (prima especificidad sobre sensibilidad). Entre ellos destacan la trombopenia, livedo reticularis, mielitis transversa, cefalea crónica, epilepsia, corea, o valvulopatías cardíacas^[1].

Existen pacientes que presentan características clínicas de APS muy claras, en los que la evaluación de la presencia de aPL es sistemáticamente negativa. Para describir a estos tipo de pacientes, Hughes y Khamashta definieron el concepto de APS seronegativo (APS_{sn}) en 2003. Su objetivo fue identificar y agrupar a pacientes que pudiesen padecer otras formas de la enfermedad que no era posible diagnosticar con los procedimientos disponibles^[2]. Para ello tomaron como modelo el concepto de “artritis seronegativa”, que tanto ayudó a definir la espondilitis anquilosante o la artropatía psoriásica. Evidentemente el concepto de APS “seronegativo” resulta contradictorio para una enfermedad que, en su definición, incluye la presencia de autoanticuerpos^[3]. Quizá deberían emplearse otros términos (como APS-like, o APS no definido, o APS extracriterios).

Existen cuatro posibles explicaciones para la situación de APS “seronegativo”:

1. Seronegativización. Se trataría de pacientes que fueron positivos al inicio de la enfermedad, cuando se desencadenaron los eventos clínicos, pero que se han negativizado en el momento de la evaluación clínica.
2. Diagnóstico incorrecto: no se descartaron otras patologías compatibles con la clínica del paciente.
3. El laboratorio no identifica la presencia de los autoanticuerpos del paciente debido a los límites de las tecnologías empleadas en la detección o a la variabilidad del propio laboratorio.
4. Los autoanticuerpos de los pacientes están reconociendo antígenos que no están incluidos en los criterios de clasificación del APS; se trataría de aPL extracriterio (aPL-EC).

Heterogeneidad de los sistemas de evaluación de aPL

En los últimos años han mejorado ostensiblemente los procedimientos diagnósticos para detectar la presencia de aPL del consenso de Sidney (anti-CL y anti-B2GP1

IgG/IgM) y se han realizado ejercicios regulares de estandarización y talleres a nivel internacional. Pese a ello, se reconoce a nivel general que las pruebas de detección no son exactas y pueden pasar por alto algunos casos: no existe ningún sistema diagnóstico que identifique a la totalidad de los pacientes con APS.

La proporción de los diversos epítomos antigénicos que lleva cada sistema diagnóstico viene condicionada por la metodología de unión del antígeno al sustrato del ensayo (superficie de la placa o esfera). Dependiendo de la metodología, algunas zonas del antígeno pueden quedar ocultas (unidas al sustrato). La inaccesibilidad de los epítomos implica que los autoanticuerpos que los reconocen no pueden detectarse.

En el taller de 2019 del Grupo Español de Autoinmunidad de la Sociedad Española de Inmunología (GEAI), dedicado al diagnóstico de laboratorio de los aPL, se observó una clara heterogeneidad en la detección de los aPL de pacientes con APS confirmado, evaluados con siete sistemas diagnósticos. La diferencia fue más marcada cuando se comparaban los métodos de fase sólida (como ELISA) con aquellos basados en esferas tapizadas de antígeno (fase semisólida).

Cuando nos encontramos ante un paciente con clínica de APS que es negativo para aPL, lo primero que nos debemos plantear es que los epítomos que reconocen los aPL del paciente pudiesen estar infrarrepresentados en el sistema diagnóstico que se ha utilizado. En estos casos, la negatividad de los aPL debe confirmarse utilizando un sistema diagnóstico distinto: si se usó un ensayo en fase sólida, se debería confirmar con otro basado en antígenos unidos a esferas, y viceversa. Solo con la negatividad en ambos sistemas podemos asumir que estamos ante un APS seronegativo.

Autoanticuerpos extracriterio

Poco tiempo después de definirse el APS (denominado entonces “síndrome anticardiolipina”), se evidenció que también podía originarse por otros autoanticuerpos distintos de los dirigidos frente a cardiolipina. Más adelante, el síndrome pasó a llamarse antifosfolípido y se asumió que podía estar originado por una familia de anticuerpos dirigidos contra diferentes dianas antigénicas.

Los dos primeros aPL incluidos en los criterios de clasificación de laboratorio fueron establecidos en Sapporo (1998): anti-CL (IgG/M) y anticoagulante lúpico. En el consenso de Sidney (2004) se incorporaron los anti-B2GP1 IgG/M.

Existen otros aPL asociados con la clínica del APS que no están incluidos en los criterios de clasificación. A

estos autoanticuerpos los llamaremos aPL “extracriterio” (aPL-EC)^[4,5].

Entre los diversos aPL-EC que se han asociados con una clínica clara de APS [véase figura] destacan dos: los anti-B2GP1 de isotipo IgA y los anti-protrombina unida a fosfatidilserina (véase más adelante). Debería valorarse su inclusión en los criterios de clasificación de APS por su relevancia clínica y la evidencia de su asociación con el APS.

Los enormes esfuerzos de estandarización realizados durante 35 años para los ensayos de detección de los aPL convencionales (anti-CL/anti-B2GP1 IgG/M) aún no nos han permitido identificar a los pacientes claramente: existen pacientes que son detectados por un sistema

de diagnóstico pero no por otros, como se ha podido comprobar en el taller del GEAI de 2019. En el caso de los aPL extracriterio, el problema de estandarización es todavía mayor. Existe diversidad de rendimiento entre los sistemas de evaluación de autoanticuerpos disponibles en el mercado, que se debe fundamentalmente al modo de preparación de los antígenos (los epítomos asociados a patología pueden quedar ocultos). Esta falta de uniformidad en los sistemas diagnósticos explicaría por qué la relevancia clínica de los aPL extracriterios descrita en la literatura es tan variable.

Los anticuerpos más estudiados han sido los anti-protrombina (PT), anti-fosfatidilserina (PS) y anti-complejo fosfatidilserina protrombina (PS/PT). Son los anti-PS/PT los que parecen tener una relación más

Anticuerpos extracriterio	Datos y recomendaciones
Anticuerpos frente a fosfolípidos cargados negativamente distintos de cardiolipina: fosfatidilserina, fosfatidiletanolamina, fosfatidilinositol y ácido fosfatídico.	Suelen acompañar a los aPL clásicos. Aún no está claro si son capaces de identificar pacientes APS seronegativos. No están bien estandarizados. Los anticuerpos frente a lípidos libres (no unidos a proteínas) dan falsos positivos en casos de infecciones. Se necesitan más estudios para respaldar su consideración en el diagnóstico del APS.
Anticuerpos anti-dominio I de B2GP1	Suelen aparecer en pacientes que son positivos para aPL clásicos. Existen pacientes que son positivos para aPL clásicos, que son negativos para anti-dominio I. Se necesitan estudios clínicos prospectivos adicionales y ensayos funcionales sobre la causalidad de los anti-dominio I en el APS.
Anticuerpos anti-cardiolipina/vimentina	Positivos en casi todos los pacientes con APS y en un gran número de pacientes con APSsn. Su presencia se superpone en los pacientes con LES y AR, lo que los hace poco específicos como marcador de diagnóstico. Los ensayos anti-CL/vimentina son complejos de preparar y estandarizar. Son muy pocos los grupos que trabajan con estos autoanticuerpos. Los sistemas comerciales para la valoración de estos anticuerpos dejaron de estar disponibles.
Anti-fosfatidilserina/protrombina	Es un buen marcador de riesgo para trombosis. Son considerados como un marcador subrogado de anticoagulante lúpico. Su papel en la aparición de trombosis se ha demostrado en estudios prospectivos. La determinación de anticuerpos anti-protrombina adherida sobre superficies no pretratadas con fosfatidilserina, no tiene ninguna relevancia clínica.
Anticuerpos IgA anti-B2GP1	Pueden aparecer de forma aislada (75 %) o asociados con aPL clásicos. Los IgA anti-B2GP1 en forma aislada se detectan fundamentalmente en pacientes que no padecen enfermedades autoinmunes (forma primaria de APS) y tienen una relevancia clínica superior a los aPL clásicos de isotipo IgM y muy cercana a los de isotipo IgG. Su papel en la aparición de trombosis se ha demostrado en estudios prospectivos.
Anticuerpos IgA anti-CL	Son muy poco prevalentes y tienen una relevancia clínica muy reducida. Suelen aparecer asociados a los aPL clásicos.
Anti-anexina A5	Los de clase IgM se han asociado con la pérdida recurrente del embarazo en mujeres negativas para los aPL clásicos. Son necesarios nuevos estudios para elucidar los mecanismos mediados por anti-anexina A5 en las complicaciones del embarazo.
Anticuerpos frente a proteínas del sistema de fibrinólisis: anti-anexina A2 y anti-S100A10	El papel del bloqueo de la fibrinólisis mediado por anticuerpos puede contribuir a la patogénesis del APS. Existen trabajos en los que se describe la aparición de trombosis asociada a la actividad fibrinolítica deficiente derivada de la presencia de anticuerpos anti-anexina A2 y anti-S100A10. Se necesitan estudios para conocer mejor el papel de estos anticuerpos.
Ensayo de resistencia a la anexina A5	Es un ensayo funcional (mecánico) que informa la resistencia a la actividad anticoagulante de la anexina A5 en el plasma de pacientes con sospecha de APS.

Principales pruebas de utilidad en el diagnóstico y evaluación del APS seronegativo (Figura elaborada por los autores).

estrecha con el desarrollo de trombosis, y se está considerando su inclusión cuando vuelvan a revisarse los criterios de clasificación del APS.

En el caso de los IgA anti-B2GP1, ocurre una situación similar con los epítomos ocultos: solo se obtienen resultados adecuados si se utilizan ensayos de fase sólida con el antígeno incorporado sobre placas de alta adherencia. Los sistemas basados en captura de antígeno y, sobre todo, aquellos que utilizan microesferas sobre las que se incorporan los antígenos, no funcionan para detectar los IgA anti-B2GP1. Por esa razón, y dada la variabilidad de los sistemas diagnósticos, cuando se informen estas determinaciones debería incorporarse información que indique cuál fue la metodología utilizada en su detección. Por ejemplo, poner IgA anti-B2GP1 “*en fase sólida*” que permita identificar claramente los resultados negativos reales descartando que sea un posible falso negativo obtenido en un test basado en antígenos unidos a esferas.

El papel de IgA anti-B2GPI y de anti-PS/PT (IgG/M/A), como el de otros aPL extracriterio, se conoce desde hace más de 10 años y existen numerosas publicaciones en las que se demuestra que la presencia de estos anticuerpos son un marcador independiente del desarrollo de trombosis a cualquier nivel del árbol vascular, tanto venoso como arterial. Lo que diferen-

cia a estos dos marcadores de otros aPL extracriterio es que recientemente han ganado una mayor relevancia por la publicación de estudios prospectivos con un alto nivel de evidencia realizados en portadores tanto de IgA anti-B2GP1 como de anti-PS/PT (IgG/M). En estos estudios se demuestra una clara asociación de la presencia de estos aPL con la aparición de los eventos trombóticos^[6-8].

Mensajes clave:

- El primer paso ante un paciente con sospecha de APS que es negativo para los aPL clásicos (anti-CL/anti-B2GP1 IgG/M y AL), es evaluar estos aPL con una metodología distinta. Si sigue siendo negativo, se deben evaluar aPL extracriterio.
- Valorar la presencia de aPL extracriterio permitirá aumentar el rendimiento del diagnóstico en pacientes con sospecha de APS en los que se ha confirmado la negatividad de los aPL incluidos en los criterios de clasificación.
- Los aPL extracriterio con mayor relevancia clínica son IgA anti-B2GP1 y anti-PS/PT (IgG/M).
- Se necesita profundizar en la estandarización de las determinaciones de los aPL y realizar nuevos estudios longitudinales para confirmar la relevancia clínica de los aPL extracriterio.

BIBLIOGRAFÍA

¹ Sciascia, S. et al. (2017). “Diagnosing antiphospholipid syndrome: ‘extra-criteria’ manifestations and technical advances”. *Nat. Rev. Rheumatol.* **13**: 548-560.

² Hughes, G. R. V. y Khamashta, M. A. (2019). “‘Seronegative antiphospholipid syndrome’: an update”. *Lupus* **28**: 273-274.

³ Cervera, R. et al. (2012). “Does seronegative antiphospholipid syndrome really exist?”. *Autoimmun. Rev.* **11**: 581-584.

⁴ Nayfe, R. et al. (2013). “Seronegative antiphospholipid syndrome”. *Rheumatology* **52**: 1358-1367.

⁵ Zigon, P. et al. (2019). “Added value of non-criteria antiphospholipid antibodies for antiphospholipid syndrome: lessons learned from year-long routine measurements”. *Clinical Rheumatology* **38**: 371-378.

Soporte para las afirmaciones de los estudios de alta evidencia:

⁶ Morales, J. M. et al. (2018). “Pre-transplant IgA-anti-beta 2 glycoprotein I antibodies as a predictor of early graft thrombosis after renal transplantation in the clinical practice. A multicenter and prospective study”. *Front. Immunol.* **9**: 468.

⁷ Tonello, M. et al. (2019). “IgG phosphatidylserine/prothrombin antibodies as a risk factor of thrombosis in antiphospholipid antibody carriers”. *Thrombosis Research*. **177**: 157-160.

⁸ Tortosa, C. et al. (2017). “Incidence of thromboembolic events in asymptomatic carriers of IgA anti ss2 glycoprotein-I antibodies”. *PLoS ONE* **12**: e0178889.



TALLERES 2019

LETICIA ALSERAWAN¹, MANUEL HERNÁNDEZ² y ESTHER MOGA¹¹Hospital de la Santa Creu i Sant Pau. Barcelona²Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona

Reunión del Grupo de Inmunoquímica (GIQ) y taller sobre IgA Hevylite[®] (II)

En la reunión del Taller de Inmunoquímica de 2019 celebrado en el congreso de la SEI en Sevilla el día 30 de mayo de 2019, se continuó el estudio de la utilidad de Hevylite[®] como alternativa a la electroforesis de proteínas en suero para la identificación y cuantificación de componentes monoclonales (CM) de difícil caracterización. En el mieloma múltiple (MM) del tipo IgA, hasta en un 40 % de los casos, la proteína monoclonal (PM) puede ser difícil de identificar y cuantificar por las técnicas electroforéticas (EPS)^[1], pudiendo alterar tanto la sensibilidad diagnóstica como la precisión del seguimiento del paciente. Hevylite[®] es un ensayo nefelométrico o turbidimétrico, que cuantifica separadamente el tipo de cadena ligera asociada a cada clase de inmunoglobulina, pudiéndose cuantificar por separado IgA- κ (IgA- κ) e IgA- λ (IgA- λ)^[2,3]. De esta manera, al ser una técnica cuantitativa y automatizada, no se ve afectada por fenómenos de co-migración, bandas difusas, ni tampoco por la subjetividad inherente a la interpretación de las EPS. Teniendo en cuenta estos datos, el objetivo de este estudio fue analizar y valorar la eficacia de Hevylite[®] como metodología alternativa/complementaria en aquellos componentes monoclonales de difícil caracterización y cuantificación por electroforesis de agarosa o capilar; y los objetivos específicos: a) Correlacionar la suma de IgA- κ + IgA- λ con la cuantificación de IgA total; b) Correlacionar el componente involucrado Hevylite[®] con la cuantificación del pico monoclonal por electroforesis capilar; c) Correlacionar el valor de IgA involucrada menos (–) la IgA no involucrada (iIgA–uIgA) con la cuantificación del pico monoclonal por electroforesis capilar; d) Analizar la correlación entre el cociente iIgA/uIgA alterado y la presencia/cuantificación del pico monoclo-

nal de la electroforesis capilar; y e) Analizar el cociente IgA- κ / IgA- λ como marcador de monoclonalidad.

En el taller de 2018 se expusieron datos preliminares de 35 muestras de las que disponíamos información de sus respectivos CRD (Cuaderno de Recogida de Datos). Estos resultados preliminares mostraron correlación significativa entre la IgA total y la suma IgA- κ + IgA- λ , y entre la cuantificación por electroforesis del CM y la concentración iIgA, iIgA–uIgA y el ratio iIgA/uIgA. Sin embargo, faltaron por estudiar 21 muestras.

Centros participantes en el taller	Muestras enviadas
Hospital de la Santa Creu i Sant Pau	11
Hospital Vall d'Hebron	15
Hospital Marqués de Valdecilla	5
Hospital Germans Trias i Pujol	8
Hospital La Paz	8
Hospital San Pedro de Alcántara	5
Complejo Hospitalario de Jaén	6
CATLAB	5
Hospital Son Espases	3
Hospital Ramón y Cajal	17
Laboratori de Referència de Catalunya	6
Hospital de Bellvitge	10
TOTAL	99

Figura 1. Elaborada por los autores.

Se concluyó analizar la totalidad de las muestras, con la finalidad de presentar los resultados y conclusiones finales en el taller del 2019.

Materiales y métodos

La población de estudio fueron pacientes mayores de 18 años con MM y proteínas monoclonales tipo IgA que migrasen en la zona beta o que presentasen dificultades de interpretación. El estudio de la cuantificación de IgA- κ e IgA- λ se realizó mediante inmunturbidimetría (Spaplus, The Binding Site[®]) en el Hospital de la Santa Creu i Sant Pau, y el estudio de cuantificación de la proteína monoclonal se realizó mediante el sistema Capillarys2 (Sebia[®]) en el Hospital Vall d'Hebron.

Resultados

Los centros participantes aportaron un total de 99 muestras [Figura 1], de las cuales se excluyeron 16 muestras por volumen insuficiente y 4 muestras por no cumplir criterios de inclusión. Se analizaron los datos del total de muestras recibidas de las que se disponían CRD, que fue de 64 (se excluyeron 15 por no disponer de CRD). De estas 64 muestras, la mayoría 62,5 % (n=40) eran MM tipo IgA- κ , y el 37,5 % (n=24) eran MM tipo IgA- λ .

El primer paso fue analizar la correlación en el total de muestras recibidas entre la suma de los pares libres IgA- κ + IgA- λ y la IgA total, donde se obtuvo una $r=0,91$, $p<0,01$ (no se disponía de la IgA total de una de las muestras). Se correlacionó también la concentración de iIgA y la cuantificación del CM por EFS; y la diferencia iIgA menos la uIgA, y la cuantificación del CM en aquellos componentes cuantificables (n=53). Se obtuvieron los siguientes resultados: $r=0,79$, $p<0,001$, y $r=0,79$, $p<0,001$, respectivamente [Figura 2].

Según la subjetividad de los centros participantes al identificar el grado de dificultad en la cuantificación del CM, se seleccionaron aquellas muestras cuyos CM se consideraban difíciles de caracterizar. Se incluyeron en este grupo 39 muestras, cuyas correlaciones para cada objetivo específico fueron: a) $r=0,96$, $p<0,001$; b) $r=0,84$, $p<0,001$; y c) $r=0,74$, $p<0,001$.

Posteriormente, se consideró la posibilidad de agrupar las muestras según los diferentes perfiles electroforéticos valorados y cuantificados por un único observador (Hospital de la Vall d'Hebron).

Para ello fue necesario solicitar a los centros el valor de las proteínas totales. Fueron incluidos en este análisis 57 muestras de las que dispusimos este valor. De este grupo, se consideraron de difícil caracterización los CM de 32 muestras. Se obtuvieron los siguientes resultados: a) $r=0,94$, $p<0,0001$; b) $r=0,76$, $p<0,0001$ y c) $r=0,79$, $p<0,0001$.

Se analizó el valor del ratio HLC (Ig involucrada / Ig no involucrada) como marcador de monoclonalidad. El porcentaje de muestras que mostraban este ratio alterado, fuera del rango esta-

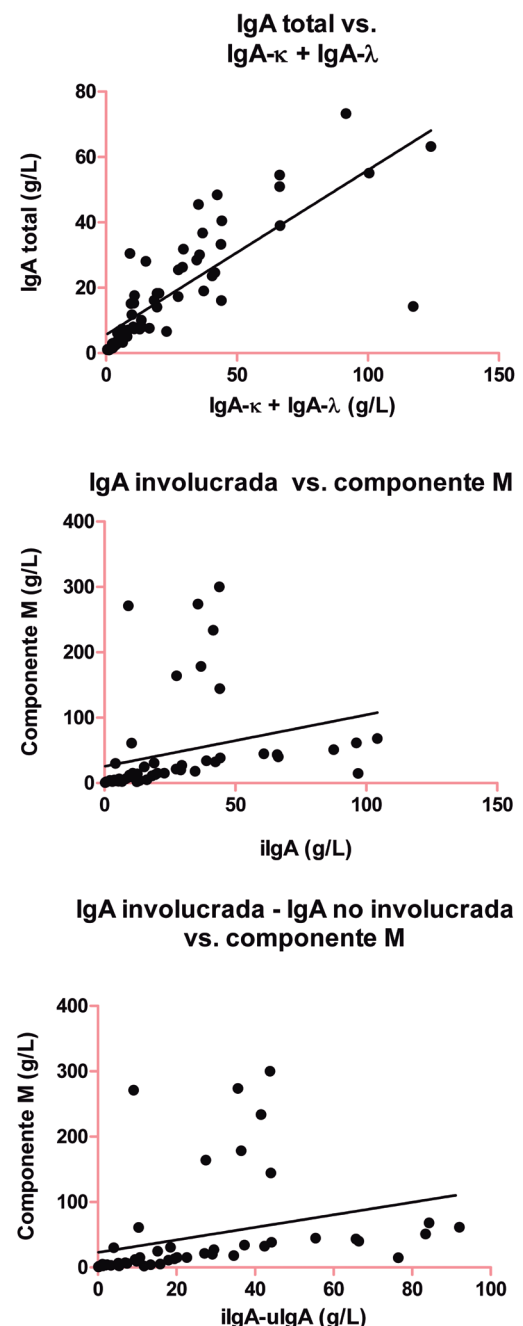


Figura 2. Elaborada por los autores.

blecido por Binding Site®, con respecto a las 63 muestras totales de las que disponíamos el valor, fue del 89 %, mostrando buena sensibilidad. La concentración de la Ig involucrada también mostró buena sensibilidad al hallarse alterada en el 92,1 % de las muestras.

Conclusiones

Se hallan buenas correlaciones entre: el valor de IgA total y la suma de IgA- λ + IgA- κ ; y la IgA involucrada y diferencia IgA involucrada – no involucrada, con la cuantificación del componente monoclonal, considerando tanto el total de muestras, como los componentes monoclonales difícilmente caracterizables.

Por otro lado, tanto el ratio HLC como la Ig involucrada, mostraron buena sensibilidad como marcadores de monoclonalidad.

Esto pone de manifiesto la validación de Heavylite® para el análisis por nefelometría/turbidimetría de los pares específicos de IgA, así como su uso para el seguimiento y diagnóstico de MM IgA, y específicamente, los CM IgA difícilmente caracterizables, a los cuales aporta un valor numérico dejando lejos la subjetividad que conllevan.

REFERENCIAS

¹ Ludwig, H. et al. (2014). "International Myeloma Working Group recommendations for global myeloma care". *Leukemia* **28**: 981-992.

² Ludwig, H. et al. (2013) "Immunoglobulin heavy/light chain ratios improve paraprotein detection and monitoring, identify residual

disease and correlate with survival in multiple myeloma patients". *Leukemia* **27**: 213-219.

³ Bradwell, A. R. et al. (2009). "Assessment of monoclonal gammopathies by nephelometric measurement of individual immunoglobulin kappa/lambda ratios. *Clin. Chem.* **55**: 1646-1655.

MONOCLONALES
MONOCLONALES

> Belimumab

Nombre genérico:	Belimumab
Nombre comercial:	Benlysta®
Laboratorio:	GlaxoSmithKline
Grupo terapéutico:	Inmunosupresores selectivos
Clase de anticuerpo:	Anticuerpo monoclonal humano de IgG1 (con cadenas ligeras λ), producido a partir de una línea celular de mamíferos (NS0) mediante tecnología de ADN recombinante.
Diana:	BlyS
Efecto:	Bloquea la unión de BlyS soluble a sus receptores en los linfocitos B
Indicación:	Lupus eritematoso sistémico activo
Año aprobación:	2011 (FDA y EMA)

OANA IRINA SOBIESCHI

Servicio de Inmunología
Hospital Universitario de Badajoz

MARÍA LUISA VARGAS

El belimumab (Benlysta®, GlaxoSmithKline) es un anticuerpo monoclonal humano IgG1 λ que se une específicamente a la forma soluble de la proteína estimuladora de linfocitos B humanos (BlyS, también conocida como BAFF, TALL-1, THANK, zTNF-4, TNFSF13B, TNFSF20, CD257) y es el primer agente biológico con indicación específica para el lupus eritematoso sistémico (LES). Mediante su unión a BlyS inhibe la supervivencia de los linfocitos B, incluyendo los linfocitos B autorreactivos, y reduce su diferenciación a células plasmáticas productoras de inmunoglobulinas (Ig)^[1]. De este modo se consigue una reducción del número de linfocitos B circulantes, pero menos profunda y prolongada que la que producen los anti-CD20.

Fundamentos para el desarrollo del belimumab

BlyS es una citoquina que pertenece a la superfamilia de ligandos del factor de necrosis tumoral (TNF) que ejerce importantes funciones reguladoras en la supervivencia, maduración, diferenciación y activación de células B, así como en el desarrollo de órganos linfoides. Es producida como una proteína transmembrana tipo II por una amplia variedad de células, principalmente mieloides (monocitos, macrófagos, neutrófilos, células dendríticas), linfocitos T y células estromales del bazo y ganglios linfáticos. La síntesis de BlyS es inducida por múltiples estímulos proinflamatorios: interferones tipo I y II, interleucina-10, factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), lipopolisacáridos, activación de receptores *Toll-like*, etc. La citoquina BlyS es secretada como proteína soluble trimérica por procesamiento proteolítico de la forma unida a la membrana, e interactúa con tres receptores expresados principalmente por linfocitos B: BR3/BAFF-R/TNFRSF13C/CD268, TACI/TNFRSF13B/CD267 y BCMA/TNFRSF17/CD269. Durante el curso del desarrollo de la célula B, los tres receptores presentan distintos patrones de expresión en la superficie celular. El receptor BR3 se expresa en la etapa de desarrollo transicional y en todas las células B maduras, se regula negativamente en las células B del centro germinal, se vuelve a expresar en las células de memoria y está ausente en las células plasmáticas. TACI se expresa en las células B activadas, células B de la zona marginal, células B de memoria con cambio de clase y células plasmáticas; mientras que el BCMA se expresa exclusivamente en la superficie de los linfocitos B de los centros germinales, plasmablastos y células plasmáticas de la médula ósea^[2].

La interacción entre BlyS y su receptor específico BR3, desencadena

señales esenciales para la diferenciación, maduración y supervivencia de las células B. La unión de TACI con BlyS y su homólogo APRIL (ligando inductor de la proliferación), promueve el cambio de isotipo de inmunoglobulinas, la diferenciación y supervivencia de los plasmocitos. El receptor BCMA es un receptor de alta afinidad para APRIL y de menor afinidad para BlyS y es fundamental para la supervivencia de las células plasmáticas de larga vida de la médula ósea, además de aumentar la presentación antigénica por células B^[2,3].

La sobreproducción de BlyS en ratones transgénicos o la administración de BlyS recombinante induce alteraciones importantes en el compartimento de las células B, con hiperplasia severa de linfocitos B en el bazo y los ganglios linfáticos, títulos elevados de inmunoglobulinas, producción de anticuerpos contra DNA nativo (dsDNA) y complejos inmunes circulantes, que llevan al desarrollo de enfermedades autoinmunes similares a LES y síndrome de Sjögren, con proteinuria, nefritis con insuficiencia renal e infiltración leucocitaria en las glándulas salivales. La expresión de BlyS transgénico en ratones con otros genes de susceptibilidad para lupus aumenta sustancialmente la posibilidad y la intensidad de la expresión de la enfermedad^[4]. Los niveles de BlyS se encuentran elevados en modelos murinos de lupus y en pacientes con LES y se asocia con niveles aumentados de anticuerpos anti-dsDNA, siendo un marcador precoz de actividad lúpica^[3].

Por el contrario, la deficiencia de BlyS o de su receptor BR3 en ratones bloquea el desarrollo de las células B, causando una reducción profunda de los linfocitos B maduros. Esto se debe a que la interacción de BlyS con BR3 es esencial para la supervivencia de las células B posteriormente a la etapa transicional temprana (T1), con solo una contribución menor de TACI, APRIL o BCMA. Además, se observó que la administración de anticuerpos contra los receptores BR3 y TACI en ratones con LES redujo notablemente el número de linfocitos B totales en sangre periférica y la proteinuria, revirtió la detección de autoanticuerpos como anti-dsDNA y aumentó la tasa de supervivencia promedio^[4].

La contribución de la producción excesiva de BlyS

en la patogénesis de LES y otras enfermedades autoinmunes, la relación entre su concentración y la actividad y progresión de la enfermedad convirtieron a BlyS en un blanco terapéutico atractivo. Los resultados de los estudios experimentales sugirieron que, el antagonizar específicamente esta proteína moduladora e inhibir su acción, podría ser una forma efectiva de controlar la actividad de los linfocitos B sin producir un bloqueo completo que afecte a las respuestas inmunitarias normales y beneficiar en el tratamiento de estados patológicos autoinmunes.

Ensayos clínicos disponibles para la indicación clínica evaluada

La efectividad y seguridad del belimumab en el manejo del LES se ha demostrado en ensayos clínicos (EC) que incluyen NCT 000657 (fase I)^[5], LBSL02 (fase II)^[6], BLISS-52 (fase III)^[7] y BLISS-76 (fase IV)^[8].

Las principales variables de eficacia empleadas fueron SELENA-SLEDAI (*Safety of Estrogens in Lupus Erythematosus National Assessment–Systemic Lupus Erythematosus Disease Activity Index*), BILAG (Grupo de Evaluación del Lupus de las Islas Británicas), Evaluación Global del Médico (PGA) y el Índice de respuesta de LES (*SLE Responder Index/SRI*). En el EC fase II se observó que los pacientes con LES y anticuerpos antinucleares (ANA) positivos tratados con belimumab combinado con la terapia estándar durante cinco años, a diferencia de los pacientes ANA negativos, presentaban una mejoría sostenida de la actividad lúpica, disminución de la frecuencia de los brotes y menores niveles de autoanticuerpos, sin un aumento de los efectos adversos. Estos resultados alentaron el desarrollo de dos EC fase III, con valoración a las 52 semanas en 865 pacientes (BLISS-52) y a las 76 semanas en 819 pacientes (BLISS-76) con LES activo (SELENA-SLEDAI ≥ 6) y títulos de ANA $\geq 1:80$ o anticuerpos anti-dsDNA ≥ 30 IU/mL. En ambos EC, se constató una mejoría clínica en los pacientes que complementaron la terapia estándar con belimumab, aunque no muy superior, con respecto al placebo (SRI de 57,6 % vs. 43,6 % en la semana 52 y 38,5 % vs. 32,4 % en la semana 76, con dosis de belimumab de 10 mg/kg administradas por vía intravenosa en los días 0, 14, y 28, y posteriormente cada 28 días hasta 48 y 72 semanas). Sí hubo un cambio reseñable en los

parámetros inmunológicos, con reducción significativa de los títulos de autoanticuerpos y normalización de los niveles séricos de IgG, C3 y C4. Los resultados de estos ensayos llevaron a su aprobación por la FDA y EMA, en 2011, como tratamiento adyuvante en pacientes con LES activo positivo para autoanticuerpos y con un alto grado de actividad de la enfermedad, a pesar del tratamiento estándar.

Actividad biológica y efectos sobre los biomarcadores

- 1) Subclases de linfocitos B y T:** Tanto en el estudio de fase II, como en los posteriores ensayos de fase III, se observó una disminución sustancial y sostenida de los linfocitos B totales circulantes y de varios subgrupos de células B, incluyendo las células B *naïve*, transicionales, B activadas y las células plasmáticas, tanto en la semana 52 como en la semana 76 de tratamiento con belimumab. Se detectó un aumento transitorio en el número de células B de memoria circulantes inmediatamente después de la administración del belimumab, alcanzando su punto máximo en la semana 8 y que volvieron gradualmente al nivel inicial de pretratamiento en el transcurso de varios meses. No se observaron disminuciones en las subpoblaciones de linfocitos T.
- 2) Autoanticuerpos:** se demostró una reducción temprana y estadísticamente significativa de los autoanticuerpos, incluidos los anticuerpos anti-dsDNA, anti-Sm, anti-RNP y anticardiolipina IgA, IgM e IgG en los grupos tratados con belimumab, en comparación con los grupos placebo en los estudios de fase II y III.
- 3) Inmunoglobulinas:** disminución de la mediana de los niveles séricos de IgG, IgM, IgA e IgE, según los resultados a largo plazo (**7 años**) del estudio de extensión de fase II^[9]. En los pacientes con hipergammaglobulinemia que recibieron belimumab, se produjo una normalización de los niveles de IgG en la semana 52 en un 49 % vs. 20 % de los pacientes que recibieron placebo. La frecuencia de hipogammaglobulinemia de grado 3–4 [grado 3: <400 mg/dl; grado 4: <250 mg/dl] permaneció baja (1,1 %–2,6 %) y no hubo

aumento en la frecuencia de las infecciones severas.

- 4) Factores del complemento:** normalización de C3 y C4 en los pacientes con niveles bajos de complemento, en un 38 % y 44 % respectivamente de los pacientes que recibieron Benlysta®, y en un 17 % y 18 % respectivamente de los pacientes que recibieron placebo, en la semana 52.

Respuesta a la inmunización

No deben administrarse vacunas de virus vivos durante 30 días antes, o al mismo tiempo que Benlysta®, ya que no se ha establecido la seguridad clínica. Dado el mecanismo de acción, el belimumab puede interferir con la respuesta a la inmunización^[1]. Sin embargo, estudios previos demostraron que la terapia con belimumab no redujo significativamente la eficacia de las vacunas antineumocócica polisacárida 23 valente (PPSV23)^[10] y conjugada 13 valente (PCV13)^[11] cuando se recibieron después del inicio de la terapia con belimumab. No hay suficientes datos con respecto a la respuesta a otras vacunas.

Datos limitados sugieren que el belimumab no afecta significativamente a la capacidad para mantener una respuesta inmune protectora a la inmunización recibida antes de su administración^[1]. En un pequeño estudio^[12], los pacientes que habían recibido previamente vacunación frente al tétanos, al neumococo o la gripe, mantenían títulos de anticuerpos protectores tras el tratamiento con belimumab.

Conclusión

Los resultados de los ensayos clínicos completados hasta el momento sugieren que el belimumab es un tratamiento adyuvante seguro y moderadamente efectivo para pacientes con LES. La mejoría de las anomalías serológicas, las manifestaciones musculoesqueléticas, la enfermedad mucocutánea y el efecto ahorrador de corticoides, son los principales beneficios observados en respuesta al tratamiento con este monoclonal. El inicio del beneficio clínico es relativamente lento, quizás no sorprendente dado su mecanismo de acción.

REFERENCIAS

- ¹ Agencia Española del Medicamentos y Productos Sanitarios. Ficha técnica Benlysta®.
- ² Smulski, C. R. y Eibel, H. (2018). "BAFF and BAFF-receptor in B cell selection and survival". *Front. Immunol.* **9**: 2285.
- ³ Davidson, A. (2012). "The rationale for BAFF inhibition in systemic lupus erythematosus". *Curr. Rheumatol. Reports.* **14**: 295-302.
- ⁴ Liu, Z. y Davidson, A. (2011). "BAFF inhibition: A new class of drugs for the treatment of autoimmunity". *Exp. Cell Res.* **317**: 1270-1277.
- ⁵ Furie, R. *et al.*; Belimumab Study Group (2008). "Biologic activity and safety of belimumab, a neutralizing anti-B-lymphocyte stimulator (BLyS) monoclonal antibody: a phase I trial in patients with systemic lupus erythematosus". *Arthritis Res. Ther.* **10**: R109.
- ⁶ Wallace, D. J. *et al.* (2009). "A phase II, randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-ranging study of belimumab in patients with active systemic lupus erythematosus". *Arthritis Rheum.* **61**: 1168-1178.
- ⁷ Navarra, S. V. *et al.*; BLISS-52 Study Group (2011). "Efficacy and safety of belimumab in patients with active systemic lupus erythematosus: a randomised, placebo-controlled, phase 3 trial". *Lancet* **377**: 721-731.
- ⁸ Furie, R. *et al.*; BLISS-76 Study Group (2011). "A phase III, randomized, placebo-controlled study of belimumab, a monoclonal antibody that inhibits B lymphocyte stimulator, in patients with systemic lupus erythematosus". *Arthritis Rheum.* **63**: 3918-3930.
- ⁹ Ginzler, E. M. *et al.*; LBSL02/99 Study Group (2014). "Disease control and safety of belimumab plus standard therapy over 7 years in patients with systemic lupus erythematosus". *J. Rheumatol.* **41**: 300-309.
- ¹⁰ Chatham, W. *et al.* (2017). "A randomized, open-label study to investigate the effect of belimumab on pneumococcal vaccination in patients with active, autoantibody-positive systemic lupus erythematosus". *Lupus* **26**: 1483-1490.
- ¹¹ Nagel, J. *et al.* (2017). "Treatment with belimumab in systemic lupus erythematosus does not impair antibody response to 13-valent pneumococcal conjugate vaccine". *Lupus* **26**: 1072-1081.
- ¹² Chatham, W. W. *et al.*; BLISS-76 Study Group (2012). "Effect of belimumab on vaccine antigen antibodies to influenza, pneumococcal, and tetanus vaccines in patients with systemic lupus erythematosus in the BLISS-76 trial". *J. Rheumatol.* **39**: 1632-1640.



Tras la pista del monoclonal



CARMEN MARTÍN

Facultativo Especialista Inmunólogo
Centro de Hemoterapia y Hemodonación de Castilla y León
Valladolid

Hablamos con frecuencia de “fármacos biológicos” cuando nos referimos a los anticuerpos monoclonales de uso terapéutico (tanto a los originales como a los genéricos, denominados en este caso biosimilares), cuando para ser estrictos, deberíamos decir “biotecnológicos”, ya que en su obtención se han necesitado manipulaciones genéticas^[1]. Köhler, Jerne y Milstein recibieron el Premio Nobel de Medicina en 1984 por las teorías sobre la especificidad en el desarrollo y control del sistema inmunitario y el descubrimiento del principio de producción de anticuerpos monoclonales, y la FDA aprobó en 1986 para uso terapéutico el OKT3, el primer anticuerpo monoclonal para el tratamiento del rechazo del trasplante de riñón. Actualmente, en la web de la Agencia Europea del Medicamento encontramos 31 diferentes principios activos autorizados que son monoclonales con diferentes usos terapéuticos.

La farmacocinética de estos fármacos es compleja; está determinada por múltiples factores y los márgenes terapéuticos y de seguridad suelen ser estrechos^[2]:

- El principio activo es una proteína, es decir, es inmunogénico, y hay que recordar que en bastantes indicaciones, como en las enfermedades autoinmunes precisamente, hay más propensión a fabricar anticuerpos. La biodisponibilidad del fármaco cae con anticuerpos y se aclaran antes. Incluso hay estudios que apuntan que la presencia de anticuerpos contra un primer fármaco podría predecir una mejor respuesta al siguiente biosimilar empleado^[3]. Pueden llegar a aparecer anticuerpos contra el fármaco hasta en el 45 % de los pacientes tratados, aunque en algunos fármacos como los anti-IL12/23 no hay datos sobre la prevalencia de anticuerpos^[4].
- La administración junto con inmunomoduladores clásicos (corticoides, azatioprina, etc.) provoca el efecto contrario: aumentan los niveles de

monoclonal, disminuye el aclaramiento y mejora la respuesta clínica.

- Un índice de masa corporal (IMC) elevado, o el sexo masculino, aceleran también el aclaramiento. Hay que considerar que una buena parte de enfermedades autoinmunes causan restricciones de movimiento, con lo cual la aparición de IMC altos es relativamente frecuente.
- El tiempo de desarrollo de la enfermedad o, al menos, el tiempo desde el debut, también determina la respuesta a estos fármacos. Los casos más recientes, responden mejor.

Con todo esto, cada paciente va a tener una farmacocinética diferente al resto. Hay cierta controversia al fijar los puntos temporales de monitorización, pero está claro que hay que monitorizar la fase de inducción del tratamiento para optimizar las dosis de fármaco^[4]. Tanto la medición de los niveles de fármaco como la presencia o ausencia de anticuerpos que lo reconozcan (ADA, *anti-drug antibodies*), proporcionan información determinante a la hora de tomar decisiones como la dosis, la posibilidad de cambiar a un biosimilar o a otra estrategia terapéutica. Además, la propia eficacia del tratamiento debe motivar reflexiones al respecto: posiblemente una reducción de la dosis de fármaco una vez controlada la enfermedad fuera deseable y segura.

Para complicar si cabe un poco más el panorama, hay casos como, por ejemplo, el de los anti-CD20 (rituximab, ocrelizumab) en patologías autoinmunes, donde hay poco consenso y gran heterogeneidad en la literatura acerca de las dosis a emplear^[5]. Lo que sí se conoce es que su efectividad depende de que se induzca una depleción de las poblaciones B y se mantenga. Una dosis puede mantener la depleción B desde 6 meses hasta 3 años y, además, puede que haya fármaco (anti-CD20) en sangre periférica a la vez que comienza la repoblación B.

Como siempre, hay que considerar también que son económicamente costosos, ya no solo por el fármaco en sí (el precio de las dosis puede variar de 100 euros a varios miles), sino porque muchos requieren perfusión intravenosa en hospital de día. Si se ponen en una balanza los miles de euros que cuesta cada tratamiento por paciente y año, frente a los pocos cientos que suponen las pruebas de laboratorio para monitorizarlos, parece fácil (y hasta ventajoso) justificar el seguimiento de los

fármacos, sus respuestas y los posibles anticuerpos anti-fármaco, también en términos económicos.

En resumen, la monitorización de los fármacos biológicos en patología autoinmune debe incluir niveles de fármaco y respuestas al mismo, tanto favorables como adversas, teniendo en cuenta su propia inmunogenicidad. De esta manera, se mejora la eficacia, la seguridad y la eficiencia de los recursos.

CONCENTRACIÓN DE FÁRMACO			
		Subterapéutica	Terapéutica
ANTICUERPOS	Indetectables	No hay respuesta: aumentar dosis o frecuencia	Si no hay respuesta, decidir cambio terapéutico
	Detectables	Cambiar a biosimilar, añadir inmunomodulador	Cambiar de opción terapéutica añadiendo o no inmunomodulador

Escenarios de decisión en cuanto a la presencia de fármaco y anticuerpos dirigidos contra él (Figura modificada de Dwadasi, Israel y Rubin; 2019^[2]).

REFERENCIAS

- ¹ Rodríguez-Cumplido, D. y Asensio-Ostos, C. (2018). "Fármacos biológicos y biosimilares: aclarando conceptos". *Atención Primaria* **50**: 323-324.
- ² Dwadasi, S., Israel, A. y Rubin, D. T. (2019). "The era of anti-tumor necrosis factor is over. What do we know, what don't we know, and what do we yearn to know? *Gastrointest. Endosc. Clin. N. Am.* **29**: 405-419.
- ³ Fobelo-Lozano, M. J., Serrano-Giménez, R. y Sánchez-Fidalgo, S. (2019). "Therapeutic drug monitoring of infliximab in spondyloarthritis. A review of the literature". *Br. J. Clin. Pharmacol.* **85**: 2264-2279.
- ⁴ Liao, M. M. y Oon, H. H. (2019). "Therapeutic drug monitoring of biologics in psoriasis". *Biologics* **13**:127-132.
- ⁵ Whittam, D. H. et al. (2019). "Rituximab in neurological disease: principles, evidence and practice". *Pract. Neurol.* **19**: 5-20.



El rincón de SEGUNDO GONZÁLEZ: Células CAR-NK



Por JESÚS GIL

La inmunoterapia contra el cáncer sigue viviendo su época dorada, y no solo a nivel de investigación en los laboratorios, sino también en la práctica clínica, donde la introducción de los conocidos como **inhibidores del punto de control** o **las terapias CAR-T** están revolucionando la manera en la que se están tratando tumores históricamente de mal pronóstico. La terapia CAR-T fue aprobada hace menos de dos años para el tratamiento de algunos tipos particulares de leucemias y linfomas, con un éxito nada despreciable cuando se habla de tratamientos contra el cáncer. Sin embargo, uno de los inconvenientes de esta terapia es, aparte de su alto coste, los **efectos adversos** que tiene, como neurotoxicidad o el conocido como síndrome de liberación de citocinas que, paradójicamente, es una manera que tenemos de comprobar que esos “superguerreros T” están destruyendo a las células rebeldes que causan el cáncer. Hace poco, un nuevo tipo de terapia, con el potencial de los superguerreros T pero sin su toxicidad, se ha estado estudiando de forma intensiva, y la velocidad a la que los estudios están avanzando pronostica una pronta incorporación en la práctica clínica. Hablamos de la terapia CAR-NK, o superguerreras NK. Para discutir sobre esta terapia hemos invitado a nuestro socio, Segundo González, asturiano de nacimiento y profesor de Inmunología en el Departamento de Biología Funcional de la Universidad de Oviedo. Tras finalizar sus estudios en Medicina en la ciudad en la que actualmente reside y terminar el doctorado, se especializó en Inmunología. Desde entonces, su pasión por esta rama de la ciencia le ha hecho centrarse en el estudio de la respuesta inmunitaria frente al cáncer, y especialmente aquella que está mediada por las **células asesinas naturales**, o NK.

Segundo, como siempre, empezamos por lo básico: ¿a qué se dedica tu grupo?

Mi grupo estudia la respuesta inmunitaria frente al cáncer, más concretamente el papel que las células asesinas naturales juegan en este proceso, aunque no es el único tipo celular que estudiamos. Estamos interesados en saber qué mecanismos usan las NK para reconocer a las células cancerígenas, y cómo estas últimas son capaces de evadir la detección por parte de las primeras. Con esta información podremos desarrollar estrategias terapéuticas que nos permitan llevar nuestros descubrimientos a los pacientes.

Hace muy poco se aprobó la terapia CAR-T, o de superguerreros T, para tratar ciertos tipos

de leucemias y linfomas, y su uso no parece restringirse a este tipo de tumores, sino que parece que va a avanzar en los próximos años y podremos ver CAR-T destinadas a tratar el mieloma múltiple o incluso el cáncer de mama. Dado el enorme éxito que la terapia CAR-T está teniendo en la práctica clínica, ¿por qué ahora aparecen las CAR-NK?

Las células NK son células citotóxicas (tienen la capacidad de destruir a otras células directamente) y, a diferencia de las células T, no están limitadas por el MHC (el “código de identificación” de todas las células de nuestro cuerpo), lo que las convierte en candidatas ideales para crear una fuente universal de células CAR-NK que puedan usarse entre pacientes. Uno de los problemas de las tera-

pías CAR-T es que se requiere extraer las células T del paciente, modificarlas genéticamente para que ataquen a los tumores, expandir su número y volver a introducirlas nuevamente (esto es así porque si se administraran células T de otro paciente, se podría provocar una situación de rechazo). Las células CAR-NK, por otro lado, no requieren del MHC y, por tanto, podrían extraerse de cualquier individuo sano, ser modificadas en el laboratorio, expandir su número, y tenerlas preparadas para introducirlas en los pacientes como terapia contra el cáncer.

Además, una ventaja de las células NK es que también tienen receptores para reconocer una porción de los anticuerpos y llevar a cabo lo que se conoce como “citotoxicidad mediada por anticuerpos”. Esto es una característica muy importante, ya que estas células pueden usarse en combinación con los anticuerpos monoclonales para destruir a las células tumorales marcadas por estos anticuerpos. Esta característica no está presente en las células T.

Entonces, ¿es la terapia CAR-NK una mejor alternativa a la terapia CAR-T?

Ambas terapias tienen sus ventajas e inconvenientes. La terapia con células CAR-NK aún se encuentra en ensayos clínicos, mientras que las células CAR-T ya están aprobadas para su uso en pacientes que lo necesiten. Si al final la terapia con células CAR-NK se aprueba y forma parte de la práctica clínica, la ventaja principal, como se mencionaba antes, es que se podrían crear preparados universales provenientes de individuos sanos. Esto es una ventaja muy importante con respecto a la terapia CAR-T, porque de esta forma se elimina el tiempo que actualmente se necesita para tener listas estas terapias. Además, esto también podría suponer una disminución de los costes (recordemos que las terapias CAR-T pueden llegar a costar más de 200 000€ por paciente).

Parece entonces que la terapia CAR-NK es una alternativa mucho mejor que la CAR-T, ¿qué hay de los inconvenientes?

Las células NK no son tan fáciles de manipular como las células T. Son más difíciles de modificar durante

el proceso de transfección o infección (proceso por el cual se inocula a un virus para “mandar” información a una célula, en este caso, el CAR); y, aparte, han mostrado menor capacidad de activación y una vida media más corta que su contrapartida T, lo que podría entonces reducir el tiempo y la eficacia que esas células CAR-NK tienen para luchar contra las células cancerosas. Dado que el estudio con células CAR-NK es muy reciente, aún se están probando alternativas para mejorar sus propiedades. Por ejemplo, una de las posibilidades que existe es hacer que las propias células produzcan compuestos que prolonguen su supervivencia, como la IL-15. Pero son aún solo ideas y los resultados provienen fundamentalmente de experimentos preclínicos y de modelos animales.

Sin embargo, recientemente se ha anunciado el éxito que ha tenido una terapia con células CAR-NK en pacientes con leucemia y linfoma donde, justamente, esas células CAR-NK expresaban también IL-15 para mejorar su supervivencia. Es decir, ya estamos empezando a ver resultados. Segundo, ¿qué otras alternativas se están llevando a cabo para mejorar la vida media de estas células? Ya que no debemos olvidarnos de que, a diferencia de las células T, las células NK no presentan memoria, esto es, no persisten en el organismo por un tiempo muy prolongado.

Cierto, las células NK no desarrollan memoria, por lo menos no como se entiende la memoria adaptativa de las células T y B. Sin embargo, aparte de la estrategia de usar la IL-15 para mejorar la supervivencia, también se está estudiando la posibilidad de realizar diversas infusiones de células CAR-NK, o incubar estas células con otro tipo de células especiales y compuestos que las hagan más duraderas antes de introducirlas en el paciente (como superguerreras NK).

Como siempre me gusta decir: “No todo es cáncer”, ya que hay muchas más patologías en las que el uso y manipulación de nuestro ejército interior podría suponer una mejora de la calidad de vida de muchos otros pacientes.

¿El uso de las células NK está restringido en la actualidad a crear superguerreras NK para tratar el cáncer?

No. La capacidad citotóxica de estas células las convierte en aliadas ideales para casos de fibrosis, autoinmunidad mediada por anticuerpos o incluso autoinmunidad mediada por células T. Ya existen estudios que han probado su eficacia en modelos animales, por ejemplo, se ha demostrado la eficacia de los CAR-T en prevenir la fibrosis cardíaca atacando a los fibroblastos cardíacos. El potencial para tratar enfermedades autoinmunes graves no es tampoco desdeñable.

Segundo, gracias por haber aceptado esta invitación en *El Rincón del Socio*. ¿Te gustaría decir algo más sobre estas superguerreras NK?

Quizá para terminar, mencionar que los CAR son muy fáciles de hacer y desarrollar, mucho más fáciles que los medicamentos tradicionales. Prácticamente cualquier laboratorio puede diseñarlos, lo que hace que actualmente se esté avanzado tan rápido en este tipo de terapias, ya usen células T o células NK. Todo lo que se ha avanzado ya con las células CAR-T se puede probar en las células NK, ya que los CAR de las células T pueden introducirse sin problemas en las células NK, con las ventajas que ya se han mencionado antes. Es necesario superar los inconvenientes que he mencionado previamente para que se puedan convertir en una terapia exitosa.





ALymph's Life

Un cómic
inmunológico

Nº21: Un destino poco prometedor



Jesús Sánchez Ruiz '20

©LABORA_TOONS

CONTINUAMOS EN EL TIMO, ACADEMIA MILITAR PARA LINFOCITOS T. EN LA ÚLTIMA VIÑETA VEMOS QUE A COLLIN PHOCYTE LE HAN ASIGNADO UN OBJETIVO, QUE DETERMINARÁ SU VIDA COMO LINFOCITO. ¿QUÉ ES ESTO DEL OBJETIVO, Y POR QUÉ ES TAN IMPORTANTE?:



TAMBIÉN PUEDES SEGUIRNOS EN WWW.LABORATOONS.COM Y EN TWITTER @ALYPHSLIFE.COM

